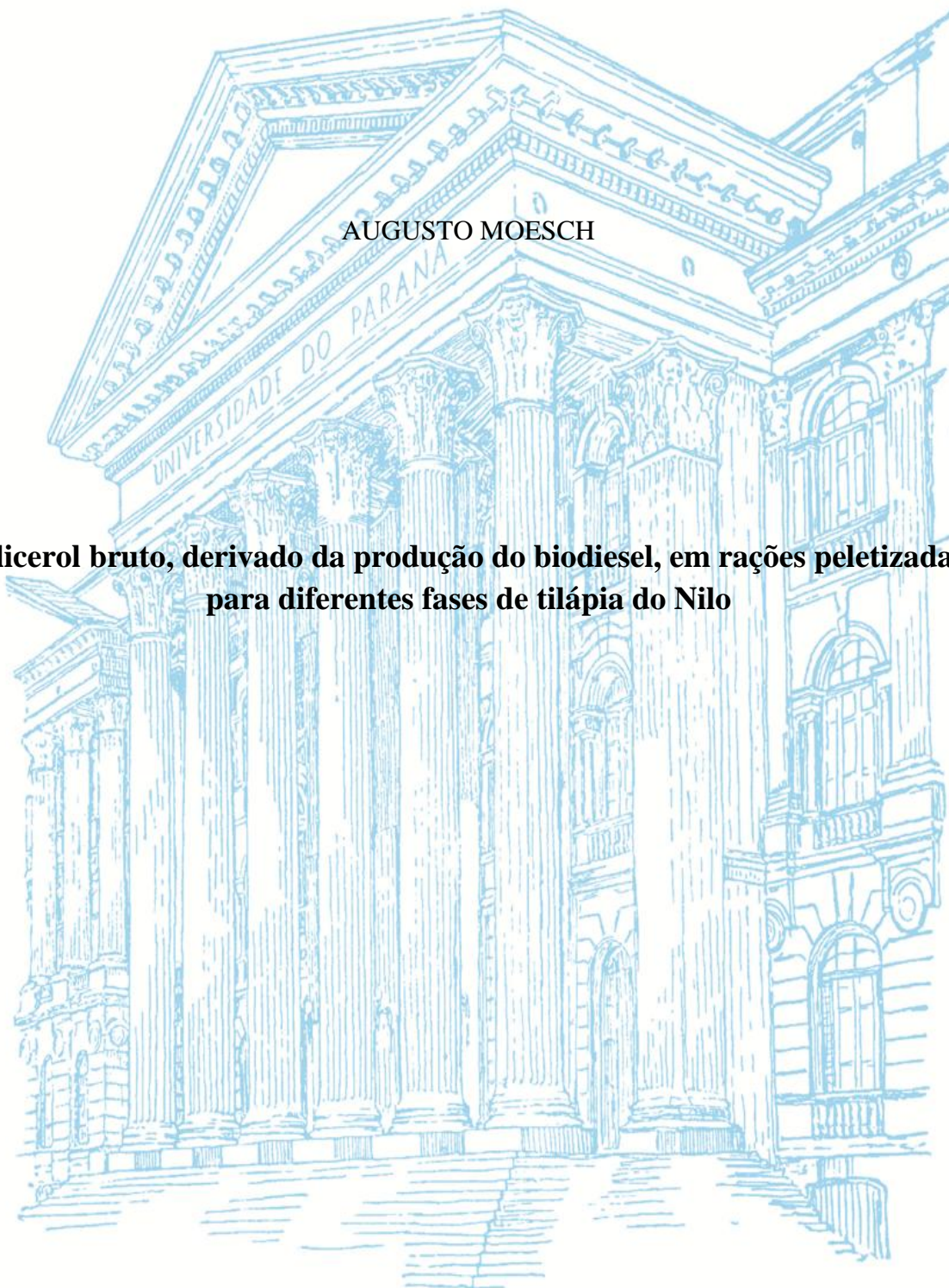


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SETOR PALOTINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AQUICULTURA E
DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

AUGUSTO MOESCH

**Glicerol bruto, derivado da produção do biodiesel, em rações peletizadas
para diferentes fases de tilápia do Nilo**



Palotina
2014

AUGUSTO MOESCH

**Glicerol bruto, derivado da produção do biodiesel, em rações peletizadas
para diferentes fases de tilápia do Nilo**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável do Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável.

Área de concentração: Produção de organismos aquáticos

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Lilian Dena dos Santos

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Meurer

Palotina
2014

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M694

Moesch, Augusto

Glicerol bruto, derivado da produção do biodiesel, em rações
peletizadas para diferentes fases de tilápia do Nilo.

/ Augusto Moesch; Orientadora, Lilian Dena dos Santos;
Coorientador, Fábio Meurer - Palotina, PR, 2014.
99p.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná,
Setor Palotina, PR – Programa de Pós-Graduação em Aquicultura
e Desenvolvimento Sustentável, 2014.

Inclui referências

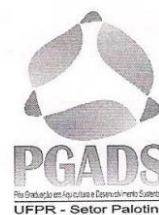
1. Aquicultura. 2. Nutrição de peixes. 3. Subproduto do Biodiesel. I.
Lilian Dena dos Santos. II. Fábio Meurer. III. Universidade Federal do
Paraná. Programa de Pós-Graduação Aquicultura e Desenvolvimento
Sustentável. IV. Título.

CDU 639.3

Ficha catalográfica elaborada por Aparecida Pereira dos Santos – CRB 9/1653



Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor Palotina
Pós-Graduação em Aquicultura e Desenvolvimento
Sustentável



TERMO DE APROVAÇÃO

AUGUSTO MOESCH

“GLICEROL BRUTO, DERIVADO DA PRODUÇÃO DO BIODIESEL, EM RAÇÕES PELETIZADAS PARA DIFERENTES FASES DE TILÁPIA DO NILO”

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável - Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná, pela seguinte Banca Examinadora:

Professora Dra. Lilian Dena dos Santos
Presidente/Orientadora Universidade Federal do Paraná

Dr. Darci Carlos Fornari
Membro: Empresa Genetic Fish Rise

Professor Dr. Robie Allan Bombardelli
Membro: Universidade Estadual do Oeste do Paraná

Palotina, 28 de julho de 2014

BIOGRAFIA

Augusto Moesch, filho de Enio Moesch e Neiva Fatima Moesch, nasceu em Palotina, Estado do Paraná, no dia 04 de agosto de 1991.

Concluiu o ensino médio em novembro de 2008, no Colégio Estadual Professor Eugênio Garmatz. Em março de 2009, ingressou na graduação de Tecnologia em Aquicultura, pela Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Palotina, Paraná. Realizou estágio e pesquisas na área de reprodução de peixes na Piscicultura Piracema - Munhoz de Mello - PR em 2011/2012, e defendeu em outubro de 2012 o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado: Reprodução de Peixes. Em novembro do mesmo ano, concluiu a graduação.

Em agosto de 2012, iniciou o curso de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável, nível Mestrado, área de concentração: Produção de Organismos Aquáticos, da Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, Palotina, Paraná.

Em 28 de julho de 2014, submeteu-se à banca para defesa da Dissertação.

Dedicatória ...

*Saudades, Vô...
da tua essência tão pura,
humilde*

*Saudades, Vô...
do seu jeito,
tão simples*

*Saudades, Vô...
do teu abraço,
forte, sem medo*

*Saudades, Vô...
dos teus passos,
firmes*

*Saudades, Vô...
da tua teimosia,
tão sábia*

*Saudades, Vô...
do teu espírito jovem,
paterno*

*Vô, o senhor era invencível ao tempo!
Guerreou uma batalha contra a morte*

*Mas ela infelizmente venceu.
Só aqui
Porque no céu
Ressuscitaste!*

Mas Vô?

*Saudade to!
Saudades Vô...*

É por você!!!

Agradeço...

A DEUS pela minha existência;

Aos meus pais, pelo dom da vida;

A minha noiva, pelo amor, companheirismo e compreensão nas dificuldades;

Aos demais familiares pelo incentivo;

À Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina;

A minha orientadora Prof^a Dra. Lilian D. dos Santos, pelo auxílio nos momentos mais difíceis;

Ao meu coorientador Prorf^o Dr. Fábio Meurer, pelo incentivo, amizade e ajuda;

Aos demais professores pelas orientações nos momentos de dúvidas;

A minha amiga Izabel Zadinelo, por toda ajuda;

Aos amigos de laboratório pelo companheirismo e auxílio;

A CAPES pela bolsa de estudos;

Aos membros da banca, por aceitarem o convite para avaliação deste trabalho;

Aos demais colegas que de alguma forma contribuíram para com o trabalho;

Epígrafe...

*Escuta e serás sábio,
O começo da sabedoria é o silêncio!*

Pitágoras de Samos

Glicerol bruto, derivado da produção do biodiesel, em rações peletizadas para diferentes fases de tilápia do Nilo

I - Crescimento, composição química corporal e morfologia do tecido hepático em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com glicerol bruto

II - Inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi determinar a influência e o melhor nível de substituição do milho pelo glicerol bruto em rações para tilápia do Nilo. O trabalho foi composto por dois experimentos de substituição do milho da ração peletizada pelo glicerol bruto, com base nos valores de energia digestível. O primeiro ensaio foi conduzido por um período de 30 dias, foram considerados como tratamentos seis níveis de substituição do milho da ração pelo glicerol bruto derivado da fabricação de biodiesel, respectivamente de 0, 20, 40, 60, 80 e 100%, com base na energia digestível. Foram utilizadas 300 tilápias do Nilo de linhagem GIFT, com peso médio de $11,46 \pm 2,18\text{g}$, distribuídos aleatoriamente 10 peixes por caixa (60 litros) em sistema de recirculação de água com uso de biofiltro, em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições. O segundo ensaio foi conduzido por 49 dias, onde foram utilizadas 200 tilápias do Nilo da linhagem GIFT, na fase de crescimento/engorda, com peso médio de $189,98 \pm 4,5\text{g}$, distribuídos aleatoriamente 10 peixes por tanque (1.000 litros) em sistema de recirculação de água com uso de biofiltro, em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (0, 6, 12, 18 e 24% de inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho) e quatro repetições. Em ambos os experimentos os peixes eram alimentados três vezes ao dia. No primeiro trabalho foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico, histologia do hepatopâncreas e composição química da carcaça. Foi verificado aumento ($P < 0,05$) na proteína bruta e umidade corporal e diminuição do extrato etéreo e da matéria mineral corporal de peixes alimentados com níveis crescentes de glicerol. Os parâmetros zootécnicos influenciados pela presença do glicerol na dieta foram o índice hepatossomático ($P < 0,05$) que apresentou comportamento quadrático e a conversão alimentar ($P < 0,05$), apresentando comportamento linear decrescente com o aumento dos níveis de glicerol. Não houve diferenças ($P > 0,05$) na área dos hepatócitos.

Não foram constatadas alterações na morfologia do hepatopâncreas. No segundo estudo foram avaliados os parâmetros de desempenho zootécnico, histologia do hepatopâncreas e intestino (segmento proximal), composição química do filé e hematologia clínica. Foi observado nos parâmetros zootécnicos menores índices de gordura ($P < 0,05$) nos tratamentos com a inclusão de glicerol. Não houve diferenças ($P > 0,05$) nas medidas morfométricas da altura das vilosidades intestinais e área dos hepatócitos. Na composição química do filé foram observadas diferenças ($P < 0,05$) na umidade e no extrato etéreo. Foi verificado maior ($P < 0,05$) pico de glicose sanguínea no tratamento controle, no tempo de coleta (1h30min), comparado com os demais tratamentos. Os bons resultados do subproduto na ração potencializam o alimento na nutrição de peixes. O glicerol bruto, derivado da fabricação do biodiesel, é uma ótima fonte energética com bom potencial para a tilápia do Nilo.

Palavras-chave: glicemia, nutrição de peixes, *Oreochromis niloticus*, subproduto.

Crude glycerol in pelleted feed for Nile tilapia in various stages of creation

I - Replacing corn with crude glycerol in diets for Nile tilapia fingerlings

II - Inclusion of crude glycerol replacing corn in diets of Nile tilapia in growing / fattening

ABSTRACT

The objective of this study was to determine the influence and the best level of substitution of corn by crude glycerol in DIETS for Nile tilapia. The work consisted of two experiments corn replacement of pelleted food by crude glycerol, based on the digestible energy. The first test was conducted for a period of 30 days, were considered as treatments six levels of substitution of corn ration by crude glycerol derived from biodiesel production, respectively 0, 20, 40, 60, 80 and 100%, based in digestible energy. 300 of GIFT tilapia strain were used, with an average weight of 11.46 ± 2.18 g, randomized 10 fish per box (60 liters) in recirculating water system with use of biofilter in a completely randomized design with six treatments and five replications. The second test was conducted for 49 days, where 200 of GIFT tilapia strain were used in growing / fattening, with an average weight of 189.98 ± 4.5 g, randomized 10 fish per tank (1000 liters) in recirculating water with use of biofilter in a completely randomized design with five treatments (0, 6, 12, 18 and 24% inclusion of crude gicerol replacing corn) and four replications system. In both experiments the fish were fed three times a day. In the first study the parameters of growth performance, histology of the hepatopaneas and chemical carcass composition were evaluated. Increased ($P < 0.05$) in crude protein and body moisture and decreased lipids and body mineral content of fish fed increasing levels of glycerol was observed. The performance parameters influenced by the presence of glycerol in the DIET were hepatosomatic index ($P < 0.05$) than quadractricaly and feed CONVERSION ($P < 0.05$), with decreased linearly with increasing levels of glycerol. There were no differences ($P > 0.05$) in the area of hepatocytes. No changes were observed in the morphology of the hepatopaneas. In the second study the parameters of growth performance, histology of the hepatopaneas and intestine (proximal segment), chemical composition of the fillet and hematology clinic were evaluated. Less was observed in zootechnical parameters in fat ($P < 0.05$) in the treatments with glycerol. There were no

differences ($P > 0.05$) in the morphometric measurements of the height of the intestinal villi and area of hepatocytes. The chemical composition of the fillet differences ($P < 0.05$) were observed in moisture and ether extract. Greater ($P < 0.05$) peak blood glucose control treatment was verified at the time of collection (1h30min), compared with the other treatments. The good results of the by-product in the DIET potentiate food in fish nutrition. Crude glycerol derived from biodiesel manufacturing, is a great energy source with great potential for the Nile tilapia.

Keywords: glycemia, fish nutrition, *Oreochromis niloticus*, byproduct

LISTA DE TABELAS

I - Crescimento, composição química corporal e morfologia do tecido hepático em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com glicerol bruto

Tabela 1 Composição alimentar das dietas experimentais fornecidas aos alevinos de tilápia do Nilo.....28

Tabela 2 Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com níveis crescentes de glicerol bruto na dieta.....32

Tabela 3 Composição química dos alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas.....34

Tabela 4 Morfometria do hepatopâncreas, tamanho das áreas dos hepatócitos do fígado dos alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho.....38

II - Inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda

Tabela 1 Composição das dietas utilizadas no experimento na alimentação das tilápias do Nilo na fase de crescimento/engorda.....59

Tabela 2 Desempenho zootécnico dos peixes alimentados com a inclusão do glicerol bruto em níveis crescentes de substituição do milho nas dietas.....63

Tabela 3 Composição química do filé dos peixes alimentados com a inclusão do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas.....65

Tabela 4 Parâmetros histológicos das áreas dos hepatócitos e altura das vilosidades intestinais dos peixes alimentados com a inclusão do glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.....	67
---	----

LISTA DE FIGURAS

I - Crescimento, composição química corporal e morfologia do tecido hepático em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com glicerol bruto

Figura 1 Comportamento da conversão alimentar em alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto na dieta.....33

Figura 2 Índice hepassomático (IHS) em alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho na dieta.....34

Figura 3 Proteína bruta na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.....35

Figura 4 Extrato etéreo na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.....36

Figura 5 Umidade na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.....36

Figura 6 Matéria mineral na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.....38

Figura 7 A. Fotomicrografia dos aspectos histológicos dos hepatócitos de tilápia do Nilo alimentadas com inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho. Disposição dos hepatócitos (H) circundados por capilares sinusóides (S). B. Tecido pancreático exócrino intrahepático (P) Fígado (F). Corado com HE.....38

II - Inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda

Figura 1 Índice de gordura visceral das tilápias do Nilo alimentadas com níveis crescentes de inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho na fase de crescimento/engorda.....64

Figura 2 Extrato etéreo do filé das tilápias do Nilo alimentadas com inclusão de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.....66

Figura 3 Umidade do filé das tilápias do Nilo alimentadas com inclusão do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas.....67

Figura 4 Fotomicrografia representativa do segmento médio do intestino de tilápia do Nilo com a inclusão de glicerol em substituição ao milho. Em destaque as vilosidades intestinais (V), epitélio da mucosa (M), túnica submucosa (SM), túnica muscular (MC), túnica serosa (MS), célula caliciforme (C). Coloração HE.....68

Figura 5 Fotomicrografia dos aspectos histológicos dos hepatócitos de tilápia do Nilo alimentadas com inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho. Disposição dos hepatócitos (H) circundados por capilares sinusóides (S), tecido pancreático exócrino intrahepático (P), fígado (F). Corado com HE.....69

Figura 6 Pico da glicose sanguínea nas dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol para a fase crescimento/engorda de tilápia do Nilo.....70

Figura 7 Pico da glicose sanguínea nas dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol para a fase crescimento/engorda de tilápia do Nilo.....71

Figura 8 Pico da glicose sanguínea nas dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol para a fase crescimento/engorda de tilápia do Nilo.....72

8. ANEXOS.....90

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1 VISÃO GERAL DA PISCULTURA.....	3
2.2 TILÁPIA.....	4
2.3 ALIMENTAÇÃO DE PEIXES.....	6
2.4 GLICEROL.....	6
2.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA CORPORAL.....	9
2.6 CARACTERÍSTICA MORFOFUNCIONAL DO INTESTINO E DO HEPATOPÂNCREAS.....	10
2.7 HEMATOLOGIA CLÍNICA.....	11
2.8 GLICOSE SANGUÍNEA.....	12
4. REFERÊNCIAS.....	15
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVOS GERAIS.....	22
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
 I - Crescimento, composição química corporal e morfologia do tecido hepático em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com glicerol bruto	 23
1. RESUMO.....	24
1.1 PALAVRAS CHAVE.....	24
1.2 ABSTRACT.....	25
1.3 KEYWORDS.....	25
2. INTRODUÇÃO.....	25
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	26

4. RESULTADOS.....	31
4.1 QUALIDADE DE ÁGUA.....	31
4.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	31
4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PEIXES.....	34
4.4 HISTOLOGIA DO HEPATOPÂNCRES.....	37
5. DISCUSSÃO.....	38
5.1 QUALIDADE DE ÁGUA.....	38
5.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	40
5.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PEIXE.....	44
5.4 HISTOLOGIA DO HEPATOPÂNCREAS.....	46
6. CONCLUSÃO.....	47
7. REFERÊNCIAS.....	47

II - Inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda.....53

1. RESUMO.....	54
1.1 PALAVRAS CHAVE.....	54
1.2 ABSTRACT.....	55
1.3 KEYWORDS.....	55
2. INTRODUÇÃO.....	55
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	56
4. RESULTADOS.....	62
4.1 QUALIDADE DE ÁGUA.....	62
4.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	63
4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FILÉ.....	65
4.4 HISTOLOGIA.....	67
4.5 GLICOSE SANGUÍNEA.....	69
5 DISCUSSÃO.....	72

5.1 QUALIDADE DE ÁGUA.....	72
5.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO.....	73
5.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA CORPORAL.....	78
5.4 HISTOLOGIA	79
5.5 GLICOSE SANGUÍNEA.....	81
6. CONCLUSÃO	83
7. REFERÊNCIAS.....	83

1. INTRODUÇÃO GERAL

A demanda de pescado vem aumentando nos últimos anos, impulsionada principalmente pelo crescimento da população e pela tendência mundial em buscar mais alimentos saudáveis e indicados para a saúde humana (Andrade *et al.* 2003). A aquicultura é o setor da produção de alimentos que mais cresce mundialmente e de acordo com a FAO (2012) o consumo de pescados no mundo foi de 148 milhões de toneladas em 2010 e os dados indicam um aumento de seis milhões de toneladas a mais em 2011.

Dentre os setores de produção animal, a aquicultura apresentou nas últimas décadas uma rápida expansão no Brasil, fato este relacionado com a grande disponibilidade de corpos d'água na maioria de seus estados, além de outros aspectos que favorecem a atividade, como o clima adequado, uma extensa costa marítima, grande produção de grãos, diversidade em espécies nativas, entre outros, o que torna excelente a qualidade nutricional de seu pescado (Borghetti *et al.* 2003).

No Brasil a aquicultura tem evoluído de forma intensa, principalmente a piscicultura, um dos ramos dessa atividade, que tem se desenvolvido quase exclusivamente em águas continentais (Scorvo Filho *et al.* 2006). Dentre os principais destaques da piscicultura continental brasileira, a tilápia atingiu a produção de 155 mil toneladas em 2010, representando 39,4 % do total de pescado cultivado, seguida pelas carpas e algumas espécies nativas como o tambaqui, tambacu e pacu, os chamados "redondos" que juntas representaram 24,6 % da produção (MPA, 2012).

As tilápias do Nilo compõem o grupo de peixes que mais cresce em termos de produção e comercialização, chegando ser na atualidade a segunda espécie mais cultivada em todo o mundo, atrás apenas das carpas (FAO 2012) e a primeira no Brasil (Oliveira, 2007). Segundo Hilsdorf (1995), várias são as vantagens que tornam as tilápias um grupo de peixes mundialmente cultivado. Estes peixes alimentam-se da base da cadeia trófica, aceitam uma variedade grande de alimentos e apresentam uma resposta positiva à fertilização dos viveiros. Destaca-se como uma espécie de peixe com bom potencial para piscicultura, por sua rusticidade, crescimento rápido, suportar baixos níveis de oxigênio dissolvido e altos de amônia e nitrito, além da fácil adaptação ao confinamento. As características da carcaça permitem a filetagem resultando na ausência de espinhos na carne, a qual tem consistência firme e sabor suave (Hayashi *et al.* 1999).

Em termos de demandas de pesquisa é contínua a busca pela qualidade da carne, dos ingredientes da ração, da sanidade, da ambiência e do bem-estar. Atualmente, vários resíduos estão sendo testados na alimentação animal (FAO 2012). Estudos sobre a adição do glicerol bruto (glicerina) na alimentação animal têm sido estimulados pela possibilidade de reduzir os custos da dieta pela grande oferta do produto no mercado mundial. Até o presente momento os resultados tem sido animadores. Estudos realizados com ruminantes (bovinos, caprinos e ovinos) concluíram que a glicerina é um alimento alternativo excelente, até mesmo quando incluída na ração em sua forma impura (produto bruto) (FAO 2012).

O glicerol bruto é um subproduto da indústria do biodiesel que muitas vezes é descartado no meio ambiente, tornando-se um poluente, e seu uso na alimentação animal pode contribuir na diminuição do impacto ambiental (Costa Neto *et al.* 2000). Do total de biodiesel produzido 8 a 10% podem ser considerado adjetos, Gonçalves *et al.* (2006) comentam que para cada 90 m³ de biodiesel produzidos pela reação de transesterificação, são gerados 10 m³ de glicerol bruto. Em outros estudos Thompson & He (2006) comentam que cada litro de biodiesel produzido, é gerado cerca de 80 g de glicerol e seu valor encontra-se entre 0,20 a 0,40 R\$/kg (Ooi *et al.* 2004).

Desta maneira o estudo do glicerol na alimentação da tilápia do Nilo é importante, pois pode proporcionar um aumento da sustentabilidade de duas cadeias produtivas brasileiras. A do biodiesel, possibilitando mais um destino para o seu subproduto e a tilapicultura, pois pode oferecer mais um alimento para compor a formulação de suas rações, portanto, possibilitando o barateamento desta.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 VISÃO GERAL DA PISCICULTURA

A queda na atividade pesqueira, devido à depleção nos estoques pesqueiros naturais, resultou em um crescimento acelerado da piscicultura nos últimos 30 anos, sendo a aquicultura o setor da produção de alimentos que mais cresce hoje no mundo FAO (2012). O Brasil vem se destacando no ramo da aquicultura, por possuir um grande volume de águas interiores, oferecendo um enorme potencial para o desenvolvimento da atividade, fato esse comprovado pelos dados da FAO (2012), que mostra o forte e contínuo crescimento dos países da América do Sul, principalmente Brasil e Peru, enquanto que nos países da América do Norte, a expansão da aquicultura está estagnada nos últimos anos.

Mundialmente, a média do consumo *per capita* de pescado aumentou 85% de 1960 para 2009 (FAO 2010), mostrando que a aquicultura desenvolve um papel econômico e social de grande importância, produzindo alimentos e gerando empregos, renda e igualdade social. Entre 2004 a 2009, o crescimento do consumo de pescados foi de aproximadamente 13% no acumulado FAO (2010). Em 2009 o consumo *per capita* mundial ficou em torno de 17,2 kg/hab/ano (FAO 2010), já em 2011, o consumo *per capita* ficou em torno de 18,8 kg/hab/ano (FAO 2012) mostrando o crescente aumento. No Brasil, a média de consumo *per capita* foi bastante inferior, ficando em torno de 9 kg/hab/ano, enquanto a Organização Mundial da Saúde (OMS) recomenda um consumo de 12 kg/hab/ano (MPA 2010). No entanto, o consumo de pescados dos brasileiros vem crescendo e, de acordo com o MPA (2010), ele era pouco inferior a 6,5 kg/hab/ano em 2003.

A aquicultura brasileira nos últimos anos obteve significativo crescimento, passando de 278 mil toneladas em 2003 para 415 mil em 2009, aumento de 35% em menos de uma década. Já a produção da piscicultura atingiu 60,2% de crescimento apenas entre 2007 e 2009. Isoladamente a produção de tilápia aumentou 105% em apenas sete anos (2003-2009). Em conjunto, a aquicultura cresceu 43,8%, entre 2007 e 2009, tornando a produção de pescado a que mais cresceu no mercado nacional de carnes no período (MPA, 2010).

A pesca não sustentável, desrespeitando os ciclos naturais de reprodução e reposição dos estoques das espécies aquáticas parece ter atingido seu limite e a aquicultura torna-se uma importante alternativa para suprir essa demanda, aumentando bastante sua participação no total de produção de pescados no mundo (Sidonio *et al.* 2012). Como resultados da

aquicultura e da pesca são produzidos 143 milhões de toneladas por ano, o que movimenta US\$ 400 bilhões em todo o mundo, no qual desse total 47 % da produção é proveniente da aquicultura. Juntas, sustentam cerca de 2,6 bilhões de pessoas, e tem papel estratégico na satisfação da demanda por alimentos proteicos (Viana *et al.* 2010).

Com o avanço da atividade aquícola, tem-se a necessidade de aumento de índices de produtividade da piscicultura, que implica na intensificação dos sistemas de produção aquícola. Atualmente a sustentabilidade é um dos componentes fundamentais da competitividade do mercado nacional e internacional, dessa forma os setores envolvidos na atividade de aquicultura vêm ponderando suas ações na busca por reduzir o impacto sobre o meio ambiente a um mínimo indispensável, de modo que não haja redução da biodiversidade, esgotamento ou comprometimento negativo de qualquer recurso natural e alterações significativas na estrutura e funcionamento dos ecossistemas (Ferreira & Barcellos, 2008). Esta é uma parte muito importante do processo produtivo e atualmente, é inadmissível o desenvolvimento de tecnologia visando aumentar a produtividade sem avaliar os impactos ambientais produzidos.

2.2 TILÁPIA

A tilápia é um peixe de água-doce pertencente à família Cichlidae, nativa da África, foram introduzidas em diversas regiões tropicais, subtropicais e temperadas do mundo durante a segunda metade do século XX (El-Sayed 2006). As primeiras espécies de tilápia trazidas para o Brasil chegaram ao Estado de São Paulo em 1953 (Azevedo, 1955). A tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) foi introduzida no Brasil em 1971 (Mainardes-Pinto *et al.* 1989), sendo uma das espécies que mais se adaptou ao nosso clima.

O interesse na criação de tilápia cresceu rapidamente na década de 90, devido à introdução da tecnologia de reversão sexual para produzir populações somente de machos. A possibilidade de produzir peixes para pesque-pague e indústrias de filetagem no sul e sudeste por um preço alto também contribuiu para o desenvolvimento da tilapicultura (Lovshin 2002). Em termos mundiais as tilápias passaram de 28.260 mil toneladas em 1970, para 383.654 mil toneladas em 1990, e para 1.505.804 toneladas em 2002, o Brasil participou com cerca de 55,8% do total de tilápias produzidas na América do Sul em 2002, sendo o 7º produtor

mundial de tilápias (El-Sayed 2006). Dados do MPA (2012) indicam que sua produção superou 155 mil toneladas em 2010.

No Brasil já é a espécie de peixes mais cultivada por sua rusticidade, crescimento rápido e fácil adaptação ao confinamento (Oliveira 2007). O mercado consumidor aceita muito bem o produto principal da tilapicultura “o filé”, que possuem boas características organolépticas e nutritivas, tais como, carne saborosa, textura firme baixo teor de gordura, ausência de espinhos intramusculares em forma de “Y” (mioceptos). As tilápias possuem excelente rendimento de filé podendo variar entre 35 a 40% em exemplares, com peso médio de 0,45 kg (Hilsdorf 1995).

Outros subprodutos que podem ser aproveitados da tilápia do Nilo são o couro, farinha de resíduos bruta, farinha de resíduos desengordurada e o óleo de tilápia. A produção de resíduos de frigoríficos na filetagem representa entre 62,5 e 66,5 % da matéria-prima que é desperdiçada, sendo fundamental o processamento destes resíduos para redução do impacto ambiental. Além disto, a transformação destes resíduos em farinha pode ser mais uma opção de renda para as indústrias, aumentando sua lucratividade (Boscolo *et al.* 2001).

A tilápia tem hábito alimentar onívoro e/ou herbívoro e em decorrência de sua grande produção, os aspectos de sua nutrição têm sido estudados (Pezzato *et al.* 2002). Podem ser cultivado tanto em água doce, quanto estuarina ou salobra (Meurer *et al.* 2003). Outros fatores favoráveis ao seu cultivo são o baixo custo relativo a outras espécies, principalmente em relação ao custo com a produção de alevinos e alimentação, porém, o custo da ração varia em torno de 50 até 70% do custo total (Boscolo *et al.* 2001). Portanto, há a necessidade da pesquisa de alimentos alternativos para melhorar a relação de custo do alimento nesta cadeia (Lahav & Ra'nam 1997).

A cadeia produtiva da tilápia do Nilo possui vários segmentos, podendo ser dividido em alevinocultores, criadores, frigoríficos e pesque-pagues. Os alevinocultores são produtores de alevinos e juvenis. Os criadores são responsáveis pela engorda dos alevinos até o peso de abate. Os frigoríficos compram, abatem e processam os peixes; e por fim o pesque-pague que adquire os peixes com o peso de abate e os estocam em lagos para a pesca esportiva (Sonoda 2002).

A tilápia apresenta mercado promissor tanto em pesque-pagues quanto na indústria de filetagem (Zanoni *et al.* 2000). Dentre os peixes cultivados no Brasil, a tilápia do Nilo pode ser destacada como uma das espécies que dispõem de uma das cadeias produtivas melhor estruturadas.

2.3 ALIMENTAÇÃO DE PEIXES

A alimentação corresponde a mais de 50 a 70% dos custos operacionais na aquicultura intensiva (El-Sayed 2006). Com a expansão da aquicultura no mundo, a utilização de alimentos alternativos podem melhorar a eficiência da produção, além do barateamento dos custos com as rações. No Brasil o uso de sistemas de produção cada vez mais intensivos, tem forçado os fabricantes de alimentos a elaborar rações nutricionalmente completas de alta digestibilidade, específicas para cada fase de crescimento (Ono 1998).

Poucos são os estudos em peixes com valores de nutrientes digestíveis ou disponíveis que atendam as exigências nutricionais para as diferentes fases de criação, havendo dificuldade de formulação de rações que atendam as diferentes espécies. Desta forma, a utilização de rações comerciais em sistemas intensivos de criação necessita de maior atenção em função da quantidade de alimento utilizado e do meio em que os peixes estão, pois a emissão de poluentes ao meio ambiente está associada à intensificação da aquicultura (Gonçalves 2006).

Os alimentos alternativos fornecem subsídios para a fabricação de rações menos onerosas e de qualidade nutricional similar para que proporcionem desempenho produtivo semelhante ao daquelas formuladas com alimentos convencionais (Signor *et al.* 2007). Devido à grande quantidade de oleaginosas existentes passíveis de serem utilizadas para a indústria processadora (Abdalla *et al.* 2008), gerando uma quantidade de produtos que pode ser aplicável para a alimentação animal, o aproveitamento desses subprodutos torna-se interessante pela viabilidade econômica das empresas, por fornecer um produto secundário a preço inferior e de maneira sustentável.

Desta maneira, o estudo dos alimentos alternativos procura dar subsídios para a produção de rações, além de mais baratas, de mesma qualidade nutricional, proporcionando desempenho produtivo equivalente àquelas formuladas com alimentos convencionais (Meurer *et al.* 2000).

2.4 GLICEROL

A matriz energética mundial está em discussão atualmente, tanto por questões ambientais como por algumas das principais fontes de energia (petróleo) ser proveniente de fonte não renovável. Em relação aos combustíveis derivados do petróleo, uma das alternativas

são os biocombustíveis, como o álcool e o biodiesel (Knothe 2006). Entretanto, muitos pontos dessa nova tecnologia dos biocombustíveis, necessitam de estudos para que a cadeia seja realmente sustentável. Em relação ao biodiesel, durante o processo da sua fabricação, há a produção de um subproduto: o glicerol (Knothe 2006).

Carl W. Scheele em 1779 durante o processo de saponificação do azeite de oliva descobriu um subproduto da indústria do biodiesel, o glicerol bruto. Em 1858, Pasteur observou sua formação como um subproduto da fermentação alcoólica, com concentração de etanol que pode variar de 2,5 a 3,6% (Vaz de Arruda *et al.* 2007).

O glicerol, desde 1959, é reconhecido como substância atóxica sendo permitido como aditivo em alimentos, e também considerado como substância “GRAS” (*Generally Regarded as Safe*) pelo *Food and Drug Administration* dos Estados Unidos (Morrison 1994). No Brasil, seu uso em produtos alimentícios é assegurado pela Resolução de nº 386, de 5 de Agosto de 1999.

Dentre as características físico-químicas do glicerol destacam-se as propriedades de ser um líquido oleoso, incolor, viscoso e de sabor doce, solúvel em água e álcool em todas as proporções e pouco solúvel em éter, acetato de etila e dioxano e insolúvel em hidrocarbonetos (Lópes 1999). O glicerol, também conhecido por 1,2,3-propanotriol, é encontrado em vegetais oleaginosos, como a soja, mamona, babaçu, girassol, palma, algodão, coco, dendê, pinhão manso e em tecidos animais associados aos ácidos graxos (Rivaldi *et al.* 2007).

Benazzi (2005) esclarecem que o termo glicerina é utilizado para compostos com 95% ou mais de glicerol em sua composição, mas o glicerol bruto obtida no processamento do biodiesel é composto por menos de 95% de glicerol. Outros autores (Rivaldi *et al.* 2007) citam que dependendo da tecnologia empregada na recuperação dos reagentes utilizados na reação de transesterificação o glicerol bruto pode apresentar níveis de até 60% de glicerol em sua composição.

O glicerol é obtido através do processo de transesterificação da molécula de triglicerídeos com álcool, porém apresenta algumas impurezas como água, sais, ésteres, álcool e óleo residual que lhe atribuem baixo custo (Ooi *et al.* 2004) entre R\$ 0,20 a R\$ 0,40 /kg (Rivaldi *et al.* 2007). O glicerol muitas vezes é descartado, tornando-se um poluente, e seu uso na alimentação animal pode contribuir na diminuição do impacto ambiental (Costa Neto *et al.* 2000)

O glicerol desempenha um papel fundamental no metabolismo (Min *et al.* 2010), sendo um componente estrutural importante de triglicerídeos e fosfolipídios, fornecendo

energia nas vias glicolíticas e dos ácidos carboxílicos. É um produto com papel osmorregulador, ou seja, tem como finalidade restabelecer e manter o volume normal de pressão, e a atividade das células (Lin 1977)..

Este subproduto na forma purificada possui inúmeras aplicações industriais (aditivos para a indústria alimentícia, química e farmacêutica). Outra possível aplicação do glicerol bruto é a sua utilização na alimentação animal, em especial para animais não ruminantes como: aves (Lammers *et al.* 2008a; Menten *et al.* 2008; Cerrate *et al.* 2006), suínos (Berenchtein 2008; Groesbeck *et al.* 2008; Kijora *et al.* 1995) e peixes (Li *et al.* 2010). Estudos sobre a adição de glicerol bruto na alimentação animal têm sido estimulados pela possibilidade de reduzir os custos da dieta pela grande oferta do subproduto no mercado mundial e até o presente momento os resultados tem sido animadores (FAO 2012).

No processo de formulação da dieta animal, para balanceamento dos valores energéticos e nutricionais, o glicerol pode ser adicionado em substituição a carboidratos que são rapidamente fermentáveis (como o amido) nas dietas desses animais, sem afetar negativamente o consumo de água, alimentos, a degradação ruminal de nutrientes ou a digestibilidade de nutrientes (FAO 2012).

Tal ingrediente, por apresentar alto valor de energia bruta (3.511 kcal/kg) e digestível (3.126 kcal/kg) para tilápias (Meurer *et al.* 2012), pode servir para a substituição parcial de fontes energéticas como carboidratos e o óleo de soja. Li *et al.* (2010) testou níveis de inclusão de glicerol bruto para o "catfish" (*Ictalurus punctatus*) e verificou a possibilidade da utilização de até 10% em rações para a espécie, entretanto, não balanceou as rações com valores de energia digestível dos alimentos. Em estudos com juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) Neu *et al.* (2012) observaram bons resultados com o glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas, principalmente no peso final dos animais.

Para suínos de engorda, Della Casa *et al.* (2009) verificaram que 10% da inclusão do glicerol pode causar redução no crescimento e piora no índice de conversão alimentar. De acordo com Lemmers *et al.* (2008) o glicerol bruto é uma fonte de energia viável e é bem utilizada por suínos em crescimento e Berenchtein (2010) afirma a possibilidade da inclusão de 9% de glicerol em rações em crescimento e terminação. Em aves, Menten *et al.* (2008) demonstrou que a inclusão de níveis de até 10% de glicerol para frangos de corte. Dozier *et al.* (2008) afirmaram que o glicerol bruto é utilizado eficientemente por frangos de corte.

Espera-se a utilização biotecnológica do glicerol bruto na alimentação, de forma a reduzir os impactos ambientais e tornar o biodiesel um produto altamente competitivo no mercado mundial de biocombustíveis seja cada vez mais promissor.

2.5 COMPOSIÇÃO QUÍMICA CORPORAL

A composição química corporal dos peixes pode ser afetada por alguns fatores, incluindo espécies, condições ambientais, tamanho do peixe, nível de proteína da dieta e taxa de alimentação (Ogata & Shearer 2000) além, da idade, peso, variação sazonal, fase fisiológica (Shearer 1994) bem como as diferentes regiões do corpo (Contreras-Guzmán 1994). Para a tilápia, numerosos estudos mostram que a composição do corpo se aproxima da composição da dieta, mas pouca informação tem sido gerada comparando a composição geral e do filé de diferentes grupos genéticos (Lugo *et al.* 2003).

As principais categorias de componentes do corpo do peixe são as mesmas daquelas de outros animais: água (com grande predominância), lipídio, proteína e pequena quantidade de carboidratos e minerais (frequentemente designados cinzas) (Weatherley & Gill 1987). Fauconneau *et al.* (1995) relataram que a porcentagem de lipídio e de proteína e o conteúdo de energia aumentam, enquanto o conteúdo de água diminuiu com o aumento do peso corporal.

A composição química dos peixes é extremamente variável e depende de vários fatores, como: a época do ano, do tipo, quantidade e qualidade do alimento consumido, do estágio de maturação sexual, da idade e da parte do corpo analisado. É também de importância básica para apadronização dos produtos alimentares com base em critérios alimentares seguros, pois fornece subsídios para decisões de caráter nutricional, acompanhamento de processos industriais e seleção de equipamentos para otimização econômico-tecnológica (Contreras-Guzmán 1994). Mas principalmente, informar o padrão adequado de nutrientes presentes no corpo do pescado, que será utilizado como matéria-prima, para a elaboração de futuros produtos.

Devido a essa propriedade da carne do pescado, em alterar seu padrão centesimal em função da alimentação, já estão sendo realizados estudos para transformar a carne do peixe em um produto diferencial e nutracêutico, principalmente utilizando-se de óleos vegetais, que empregam maior quantidade de ácidos graxos da série ômega-3 (Higuchi 2010). É de extrema

importância estudos sobre a composição química do peixe, pois dessa forma pode-se determinar seu preço de venda, assim como o tempo de prateleira, além de informações essenciais para a comercialização do produto, como por exemplo, a proteína no seu músculo.

2.6 CARACTERÍSTICA MORFOFUNCIONAL DO INTESTINO E DO HEPATOPÂNCREAS

Considerando-se a grande diversidade das espécies de peixes e a conseqüente diferenciação morfofisiológica, a nutrição de peixes apresenta-se como uma vasta área de estudo, uma vez que estes animais apresentam hábitos alimentares diversos (Seixas-Filho *et al.* 2000). Muitos estudos têm sido realizados relacionando as características estruturais, anatômicas e/ou histológicas do aparelho digestório dos peixes com seus hábitos e comportamentos alimentares (Seixas-Filho *et al.* 2000).

A filogenia deve ser levada em consideração, pois espécies com hábitos alimentares semelhantes, mas de famílias distintas, podem apresentar diferenças nos componentes dos sistemas digestórios (Baldisseroto 2002). Os vilos são evaginações da mucosa (epitélio e lâmina própria) que se projetam na luz do intestino para aumentar a área de superfície para a digestão e absorção intestinal (Junqueira & Carneiro 2004) e são constituídos pelas células caliciformes, enterócitos e enteroendócrinas (Boleli *et al.* 2002). O desenvolvimento da mucosa intestinal consiste no aumento da altura e densidade dos vilos, o que corresponde a um aumento no número de suas células epiteliais. Isso ocorre, devido a renovação celular (proliferação e diferenciação) com mitoses ou por perda de células (extrusão) que ocorrem nas criptas (Maiorka *et al.* 2002), ou no caso dos peixes, na base dos vilos.

O tamanho e a densidade dos vilos estão relacionados com a perda de células e renovação celular pelo epitélio da mucosa intestinal, o desequilíbrio do processo de renovação celular a favor de um aumento na proliferação tem papel relevante, pois maximiza a digestão e absorção intestinal para maior ganho de peso. Assim, vários componentes da dieta têm sido testados para o crescimento da mucosa intestinal (Boleli *et al.* 2002).

Os órgãos digestivos acessórios são: o pâncreas e o fígado. Embora o pâncreas dos peixes cartilaginosos seja grande e distinto, o pâncreas dos teleósteos é difuso e não pode ser facilmente observado durante uma dissecação total. O tecido pancreático em algumas espécies encontra-se difuso no fígado, sendo chamado de pâncreas intra hepático ou hepatopâncreas

(Bruslé & Anadon 1996). O fígado é uma glândula derivada embrionariamente, como em todos os vertebrados, do intestino. A forma do fígado entre os peixes é a mais variada: ele pode ter lobos pares e ímpares e estar relacionado com o arranjo interno das vísceras. É um órgão denso, ventralmente localizado na região cranial da cavidade celomática (Bruslé & Anadon 1996; Bombonato *et al.* 2007).

A literatura relativa às características estruturais do fígado de peixes de água doce é pouco elucidativa, principalmente quanto às alterações em função das fontes alimentares. A respeito do fígado dos vertebrados, Elias & Bengelsdore (1952) relataram que sua estrutura é uniforme a partir dos peixes. Segundo Mishra *et al.* (1988), várias modificações do aparelho digestivo de peixes são observadas morfológica e histologicamente, devido a variedade dos padrões de alimentação.

O conhecimento morfofuncional dos peixes tem grande importância para a formulação e elaboração de dietas que atendam as exigências dos peixes, garantindo assim uma melhora no desempenho zootécnico e saúde dos animais. O sucesso da aquicultura depende do conhecimento das características morfofisiológicas e comportamentais das espécies em criação, principalmente, pelo fato de que muitas das modificações no sistema histológico dos peixes estão relacionadas com o tipo de alimentação.

2.7 HEMATOLOGIA CLÍNICA

A hematologia em peixes é uma ferramenta auxiliar para o bom sucesso na aquicultura e os distúrbios morfológicos de células do sangue podem ser utilizados para auxiliar diagnóstico e realizar prognósticos de peixes aos diferentes desafios do ambiente. Os parâmetros sanguíneos podem ser usados como indicadores biológicos no monitoramento do bem estar dos peixes, sendo utilizados como ferramenta para o diagnóstico de estresse animal, de desequilíbrio influenciado pelo o ambiente ou devido à presença de agentes infecciosos (Silva *et al.* 2012). Os parâmetros hematológicos podem contribuir para informações adicionais sobre a saúde e o sistema imunológico dos peixes (Tavares-Dias *et al.* 2008), e posteriormente auxiliar nos trabalhos de manejo, relacionando-os com as adversidades ambientais (Ranzani-Paiva *et al.* 1999).

Pesquisadores têm utilizado a hematologia clínica como método de avaliação das exigências nutricionais. Porém, pouco se conhece sobre as concentrações normais dos

parâmetros bioquímicos e hematológicos, embora estudos sobre a circulação sanguínea e os tecidos hematopoiéticos dos peixes marinhos e de água doce já existam há mais de 70 anos (Soldatov 2005). A padronização dos parâmetros hematológicos dos peixes é fundamental, pois, auxilia determinação de influências de dietas, enfermidades e até mesmo outras situações de estresse ambiental (Silveira & Rigos 1989), assim como a resistência ao estresse.

O conhecimento das respostas hematológicas para diferentes dietas podem ser usadas para formular novas estratégias que sejam viáveis na alimentação (Bicudo *et al.* 2009), e avaliar se as condições estabelecidas estão produzindo espécies saudáveis no cultivo. A análise dos parâmetros hematológicos e bioquímicos é uma ferramenta importante para avaliar a saúde e monitorar processos mórbidos que podem ocorrer nos peixes e, portanto, indispensável para o diagnóstico da saúde do animal (Satake *et al.* 2009).

Gradativamente são necessárias pesquisas com o intuito de avaliação às exigências nutricionais de peixes através do método da hematologia clínica. O estudo de parâmetros hematológicos é uma importante ferramenta para avaliação da saúde e possíveis alterações fisiológicas sofridas pelos peixes, fornecendo informações importantes para o diagnóstico de possíveis condições de equilíbrio ou patológicas.

2.8 GLICOSE SANGUÍNEA

O sangue banha todos os tecidos orgânicos, exceto o epitelial e o cartilagenoso e devido a essa condição fisiológica, seu estudo torna-se estratégico para avaliação do estado de saúde dos peixes. Com este propósito, vários pesquisadores têm utilizado a hematologia clínica como método de avaliação das exigências nutricionais, tais como requerimentos de minerais para tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) (Hisano *et al.* 2007).

O metabolismo de glicose dos peixes tem sido bastante estudado em relação, principalmente, aos mamíferos, visto que os tecidos periféricos destes animais têm capacidade mais baixa de utilização da glicose. Peixes expostos às situações de estresse apresentam ativação do eixo hipotálamo-hipófise interrenal, resultando na liberação de corticosteróides (cortisol) e catecolaminas (epinefrina e norepinefrina), (Sumpter, 1997).

Quando acontece algum tipo de modificação intrínseca, pode ocorrer elevação da glicose no plasma sanguíneo e elevação na produção de lactato (Agrahari *et al.* 2007). Porém,

essas composições na composição bioquímica do sangue acontecem rapidamente, em alguns segundos, quando os peixes sofrem alguma manipulação (Velisek *et al.* 2011)

A glicose é um importante combustível metabólico nos vertebrados e vários mecanismos atuam para assegurar um constante suprimento para os tecidos glicose-dependentes, tais como células vermelhas do sangue, tecidos nervosos, entre outros. A glicose pode originar-se do intestino durante a digestão e absorção de carboidratos ingeridos além de ser produzida pelo fígado e rins por glicogenólise, ou através da gliconeogênese a partir de lactato, aminoácidos e glicerol (Christiansen & Klungsoyr 1987).

A glicose é o principal monossacarídeo circulante que atua como substrato energético armazenado como glicogênio hepático e muscular (por meio da glicogênese), mobilizado para proporcionar suporte energético aos peixes. Sua concentração no sangue varia intra e interespecificamente, de acordo com o estágio de desenvolvimento e o regime de alimentação (Hemre *et al.* 2002). Na maioria dos animais, a glicose entra nas células por difusão facilitada mediada por uma família de proteínas transportadoras de glicose, as GLUTs.

Os parâmetros bioquímicos são influenciados pelo ambiente aquático em qual o peixe se encontra, e às vezes refletem nos órgãos, que são alvos de toxicidade. A enzima glicerol quinase, encontrada em grande parte no fígado e rins (Robergs & Griffin 1998), pode realizar a oxidação do glicerol para obtenção de energia ou convertê-lo em glicose. Essas reações podem ser reversíveis dependendo do substrato em maior proporção (Robergs & Griffin, 1998), assim, a quantidade de glicose ou outros metabólitos gerados dependem da quantidade de glicerol consumido.

Com a finalidade de suprir as necessidades energéticas, para que se mantenham os níveis séricos de glicose inalterados, o organismo possui mecanismos que permitem preservar o nível de glicose circulante, mesmo quando em jejum. Assim, se a concentração de glicose circulante vinda da alimentação diminui, o glicogênio hepático se degrada fazendo com que a glicemia volte ao normal. Contudo, o glicogênio hepático não é capaz de manter a concentração de glicose normal por um período muito longo (Guerra 2010).

Segundo Morgan e Iwama (1997), a glicose é a principal fonte de energia utilizada pelos peixes para suportar situações adversas, sendo indicador de situações adversas. A queda nas taxas de glicose no plasma pode ser explicada pelo consumo dos tecidos e para auxiliar na síntese do glicogênio hepático e muscular.

Embora haja na literatura estudos sobre a hematologia de tilápias do Nilo, pouco se conhece sobre a concentração da glicose sanguínea na fisiologia da espécie exótica avaliada

em questão. Desse modo, informações e conhecimentos sobre picos de glicose sanguínea podem proporcionar relevantes indicações de alterações em seu estado fisiológico ao piscicultor.

3. REFERÊNCIAS

- Abdalla, A.L., Silva Filho, J.C., Godoi, A.R., Carmo, C.A. & Paula Eduardo, J.L. (2008) Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **37**, 260-268.
- Agrahari, S., Pandey, K.C. & Gopal, K. (2007) Biochemical alteration induced bmonocrotophos in the blood plasma of fish, *Channa punctatus* (Block). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **88**, 268-272.
- Andrade, D.R. & Yasui, G.S. (2003) O manejo da reprodução natural e artificial e sua importância na produção de peixes no Brasil, *Revevista Brasileira de Reprodução Animal*, **27**(2), 166-172.
- Azevedo, P. (1955) Aclimação da tilápia no Brasil. *Chácaras e quintais*, **2**, 191-92
- Baldisseroto, B. (2002) *Fisiologia de peixes aplicada à piscicultura*. Editora da Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, pp. 212.
- Benazzi, T.L. (2005) Estudo do comportamento de fases de sistemas contendo glicerol e óleo de oliva em propano na presença de surfactante. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões. Erechim. (Dissertação) Mestrado em Engenharia de alimentos, pp. 76.
- Berenchtein, B., Costa, L.B., Braz, D.B., Almeida, V.V., Tse, M.L.P., Miyada, V.S. (2010). Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, [online] **39**(7), 1491-1496.
- Bicudo, I.J., Sado, R.Y., Cyrino, J.E.P. (2009) Growth and haematology of pacu, *Piaractus mesopotamicus*, fed diets with varying protein to energy ratio. *Aquaculture Research*, **40**, 486-495.
- Boleli, I.C., Maiorka, A & Macari, M. (2002) Estrutura funcional do trato digestório. In: Macari, M., Furlan, R.L. & Gonzáles, E.P. *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*, Jaboticabal, Editora FUNEP/UNESP, pp. 75-96.
- Bombonato, M.T.S., Rochel, S.S., Vicentini, C.A. & Vicentini, I.B.F. (2007) Estudo morfológico do tecido hepático de *Leporinus macrocephalus*. *Acta Scientiarum Biological Sciences*, **29**(1), 81-85.
- Borghetti, N.R.B., Ostrensky, A. & Borghetti, J.R. (2003) *Aquicultura: uma visão geral sobre a produção de organismos aquáticos no Brasil e no mundo*. Curitiba: Grupo Integrado de aquicultura e estudos Ambientais,. pp. 128.
- Boscolo, W.R., Hayashi, C., Meurer, F. & Soares, C.M. (2001) Farinhas de peixe, carne e ossos, vísceras e crisálida como atráctantes em dietas para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **30**(5), 1397-1402.

Bruslé, J. & Anadon, G.G. (1996) The structure and function of fish liver. In: Munshi, J. S.D. & Dutta, H.M. Editora Fish Morphology horizon of new research. *Science Publishers Inc*, pp. 77-93.

Cerrate, S., Yan, F., Wang, Z., Coto, C., Sacakli, P. & Waldroup, P.W. (2006) Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. *International Journal of Poultry Science*, **5**(11), 1001-1007.

Christiansen, D.C. & Klungsoyr, L. (1987) Metabolic utilization of nutrients and the effects of insulin in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **88**, 701-711.

Contreras-Guzmán, E.S. (1994) Bioquímica de pescados e derivados. Jaboticabal: Funep. pp. 409.

Costa Neto, P.R., Rossi, L.F.S, Zagonel, G.F & Ramos, L.P. (2000) Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. *Química Nova*, **23**(4) 531-537.

Della Casa, G., Bochicchio, D., Faeti, V., Marchetto, G., Poletti, E., Rossi, A., Garavaldi, A., Panciroli, A. & Brogna, N. (2009) Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. *Meat Science*, **81**(1), 238-244.

Dozier, W.A., Kerr, B.J., Corzo, M.T., Kidd, T.E., Weber, K. & Bregendahl, K. (2008) Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. *Poultry Science*, **87**, 317-322.

Elias, H. & Bengesdore, H. (1952) The structure of the liver of vertebrates. *Acta Anatomica*, **14**(4), 297-337.

El-Sayed, A. M. (2006) *Tilapia Culture*. London: Cabi. pp. 277.

FAO (2010) Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. *The state of world fisheries and aquaculture 2010*. Rome: FAO, pp. 197. ISSN 1020-5489

FAO (2012) Organização das Nações Unidas para a Agricultura e Alimentação. *The state of world fisheries and aquaculture 2012*. Rome: FAO, pp. 230. ISSN 1020-5489

Fauconneau, B., Alami-Durante, H., Laroche, M., Marcel, J. & Vollt, D. (1995) Growth and meat quality relations in carp. *Aquaculture*, **129**, 265-297.

Ferreira, D. & Barcellos, G.L.J. (2008) Enfoque combinado entre as boas práticas de manejo e as medidas mitigadoras de estresse na piscicultura; *Boletim Instituto de Pesca*, **4**, 601-611.

Gonçalves, V.L.C., Pinto, B., Musgueira, L.C., Silva, J.C. & Mota, C.J.A. (2006) Biogasolina: Produção de éteres e ésteres de glicerina. In: *Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel*. Brasília. Associação Brasileira das Instituições de Pesquisa Tecnológica, pp. 14-19.

- Groesbeck, C.N., Mckinney, L.J., Derouchey, J.M., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Dritz, S.S., Nelssen, J.L., Duttlinger, A.W., Fahrenholz, A.C. & Behnke, K.C. (2008) Effect of crude glycerol on pellet mill production and nursery pig growth performance. *Journal of Animal Science*, **85**(1), 201-202.
- Guerra, R.L.H. (2010) Glicerina bruta na alimentação de frangos de corte. Universidade Estadual de Maringá (Dissertação) Mestrado em Zootecnia, pp. 55.
- Hayashi, C., Boscolo, W.R., Soares, C.M. & Meurer, F. (1999) Uso de diferentes graus de moagem dos ingredientes em dietas para a tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.) na fase de crescimento. *Acta Science*, **21**(3), 733-737.
- Hemre, G.I., Mommsen, T.P. & Krogh, A. (2002) Carbohydrates in fish nutrition: effects on growth, glucose metabolism and hepatic enzymes. *Aquaculture Nutrition*, **8**, 175-194.
- Higuchi, L.H. (2010) Óleos vegetais obtido por extração mecânica em rações para a tilápia do Nilo. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. (Dissertação) Mestrado em desempenho e quantificação de ácidos graxos, pp.56.
- Hildsorf, A.W.S. (1995) Genética e cultivo de tilápias vermelhas, uma revisão. *Boletim Instituto de Pesca*, **22**(1), 73-78.
- Hisano, H., Barros, M.M. & Pezzato, L.E. (2007) Levedura e zinco como pró-nutrientes para tilápia-do-nilo (*Oreochromis niloticus*): aspectos hematológicos. *Boletim do Instituto de Pesca*, **33**(1), 35-42.
- Junqueira, L.C.; Carneiro, J. (2004) *Histologia Básica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, ed 10, pp. 488.
- Kijora, C., Bergner, H., Kupsch, R.D., Hagemann, L. (1995) Glycerol as a feed component in fattening pigs. *Archives of Animal Nutrition*, **47**(40), 345-360.
- Knothe, G. (2006) *Manual do biodiesel*. São Paulo: Edgard Blucher. pp. 340.
- Lahav, E. & Ra'nan, Z. (1997) Salinity tolerance of genetically produced tilapia (*Oreochromis*) hybrids. *Bamidgeh*, **49**(30), 160-165.
- Lammers, P.J., Kerr, B.J., Honeyman, M.S., Stalder, K., Dozier, W.A., Weber, T.E., Kidd, M.T. & Bregendahl, K. (2008) Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. *Journal of Animal Science*, **87**(1), 104-107.
- Li, M.H., Minchew, C.D., Oberle, D.F. & Robinson, E.H. (2010) Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for channel catfish *Ictalurus punctatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, **41**(1), 130-136.
- Lin, E.C.C. (1977) Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry*, **46**, 765-795.

Lópes, F.D., Revilla, J.L.G. & Munilla, M.H. (1999) Diversificação, matérias-primas, derivados do bagaço do melaço, outros derivados, resíduos, energia. In: *Manual dos Derivados da Cana-de-Açúcar*. Brasília: ABIPTI, cap. 5.4, pp. 393-397.

Lovshin, L.L. (2002) Tilapia culture in Brazil. In Costa-Pierce, B.A. & Rakocy, J.E. ed. *Tilapia Aquaculture in the Americas*. *The World Aquaculture Society*, **2**, 113-140.

Lugo, M.G., Alvarez, I.G., Novoa, M.A.O & Córdova, G. M. (2003) Comparison of growth, fillet yield and proximate composition between Stirling Nile tilapia (wild type) (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus) and red hybrid tilapia (Florida red tilapia X Stirling red *O. niloticus*) males. *Aquaculture Research*, **34**, 1023-1028.

Mainardes-Pinto, C.S.R.; Verani, J.R. & Antoniutti, D.M. (1989) Estudo comparativo do crescimento de machos de *Oreochromis niloticus* em diferentes períodos de cultivo. *Boletim do Instituto de Pesca*, **16**, 19-27.

Maiorka, A., Boleli, I.C. & Macari, M. (2002) Desenvolvimento e reparo da mucosa intestinal. In: Macari, M., Furlan, R.L. & Gonzáles, E. (Eds) *Fisiologia aviária aplicada a frangos de corte*, Jaboticabal: FUNEP/UNESP, pp. 375.

Menten, J.F.M., Pereira, P.W.Z. & Racanicci, A.M.C. (2008) Avaliação da glicerina proveniente do biodiesel como ingrediente para rações de frangos de corte. In: *Conferência apinco 2008 de ciência e tecnologia avícolas, 2008*, Santos. Anais... Campinas: APINCO, pp. 66.

Menton, D.J., Slinger, S.J. & Hilton, J.W. (1986) Utilization of free glycerol as a source of dietary energy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, **56**, 215-227.

Meurer, F., Franzen, A., Piovesan, P., Rossato, K.A. & SANTOS, L.D. dos. (2012) Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research*, **43**, 1734-1737.

Meurer, F., Hayashi, C. & Boscolo, W.R. (2003) Digestibilidade aparente de alguns alimentos protéicos pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **32**(6), 1801-1809.

Meurer, F., Hayashi, C., Soares, C.M. & Boscolo, W.R. (2000) Utilização de levedura *spray dried* na alimentação de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.). *Acta Scientiarum*, **22**(2), 479-484.

Min, Y.N., Yan, F., Liu, F.Z., Coto, C. & Waldroup, P.W. (2010) Glycerin-A new energy source for poultry. *International Journal of Poultry Science*, **9**, 1-4.

Mishra, K.P., Ehsan, S. & Ahmad, M.F. (1988) Comparative histo enzymological studies of liver of some teleosts in relation of to their feeding habits. *Folia Morphológica*, **36**(3), 386-92.

Morgan, J.D. & Iwama, G.K. (1997) Measurements of stressed states in the field. In: Iwama, G.K., Pickering, A.D., Sumpter, J.P. & Schreck, C.B. Eds. *Fish stress and health in*

aquaculture. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge University Press, New York, pp. 247-270.

Morrison, L.R. (1994) Glycerol, *Encyclopedia of chemical technology*, **11**, 921-932.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. (2010) Produção pesqueira e aquícola: *Estatística 2008 e 2009*. Brasília, pp. 30.

MPA. Ministério da Pesca e Aquicultura. (2012) Boletim estatístico da pesca e aquicultura: Brasil 2010-2012. *Estatística da pesca e aquicultura*. Disponível em: <<http://www.mpa.gov.br/images/Docs/Informacoes>>.

Neu, D.H., Furuya, W.M., Boscolo, W.R., Potrich, F.R. & Feiden, A. (2012) Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, **19**, 211-217.

Ogata, H.Y. & Shearer, K.D. (2000) Influence of dietary fat and adiposity on feed intake of juvenile red sea bream *Pargus major*. *Aquaculture*, **189**, 237-249.

Oliveira, E.G., Santos, F.J.S., Pereira, A.M.L., & Lima, C.B. (2007) Produção de tilápia: Mercado, espécie, biologia e recria, *Embrapa circular técnica*, **45**, 1-12.

Ono, E.A. (1998) Formação de preços das rações comerciais para peixes. In: *Simpósio sobre manejo e nutrição de peixes*, Piracicaba. Anais...Piracicaba: CBNA, 1998. pp.163.

Ooi, T.L., Yong, K.C., Hazimah, A.H., Dzulkefly, K. & Wan-Yunus, W.M.Z. (2004) Glycerol residue- A rich source of glycerol and medium chain triglycerides, *Journal of Oil Science*, **53**, 29-33.

Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuya, W.M & Pezzato, A.C. (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **31**, 1595-1604.

Ranzani-Paiva, M.J.T., Salles, F.A., Eiras, J.C., Eiras, A.C., Ishikawa, C.M. & alexandrino, A.C. (1999) Análises hematológicas de curimatá (*Prochilodus scrofa*), pacu (*Piaractus mesopotamicus*) e tambaqui (*Colossoma macropomum*) das estações de piscicultura do Instituto de Pesca, Estado de São Paulo. *Boletim do Instituto de Pesca*, **25**, 77-83.

Resolução nº 386 de 5 de Agosto de 1999. *Regulamento técnico sobre aditivos utilizados Segundo as boas práticas de fabricação e suas funções*. Disponível em: www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivos_alimentares.htm. Acesso em 2 de setembro de 2012.

Rivaldi, J.D., Fonseca, R., Sarrouh, B.F., Jorge, N. & Silva, S.S. (2007) Glicerol de biodiesel: Estratégias biotecnológicas para o aproveitamento do glicerol gerado da produção de biodiesel. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, **37**, 44-51.

Roberts, R.A. & Griffin, S.E. (1998) Glycerol. Biochemistry, pharmacokinetics and clinical and practical applications. *Sports Medicine*, **26**, 145-167.

- Satake, F., Ishikawa, M.M., Hisano, H., Pádúa, S.B. & Tavares-Dias, M. (2009) Relação peso comprimento, fator de condição e parâmetros hematológicos de dourado *Salminus brasiliensis* cultivado em condições experimentais. *Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento*. Embrapa, Dourados – MS, p. 24.
- Scorvo Filho, J.D., Pinto, C.S.R. M., Verani, J.R. & Silva, A.L. (2006) Custo operacional de produção da criação de tilápias vermelha da flórida e tailandesa em tanques rede de pequeno volume. *Informações Econômicas*, São Paulo, **36**(10), 71-79.
- Seixas-Filho, J.T., Brás, J.M., Gomide, A.T.M., Oliveira, M.G.A. Donzele, J. L. & Menin, E. (2000) Anatomia funcional e morfometria dos intestinos e cecos pilóricos do teleostei de água doce *Brycon orbignyanus* (Valenciennes, 1849). *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, **29**(2), 313-324.
- Shearer, K.D. (1994) Factors affecting the proximate composition of cultured fishes with emphasis on salmonids. *Aquaculture*, **199**, 63-88.
- Signor, A.A., Boscolo, W.R., Feiden, A., Signor, A. & Reidel, A. (2007) Wheat midlings in the Nile tilapia feeding (*Oreochromis niloticus* L.): digestibility and performance. *Cienc. Rural*, **37**, 1116-1121.
- Silva, A.S.E., Lima, J.T.A.X. & Blanco, B.S. (2012) Hematologia em peixes. *Revista Centauro*, **3**(1), 24-32.
- Silveira, R., Rigores, C. (1989) Características hematológicas normais de *Oreochromis aureus* em cultivo. *Revista Latino americana de Acuicultura*, **39**, p. 54-56.
- Soldatov, A.A. (2005) Peculiarities of organization and functioning of the fish red blood system. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, **41**(3), 272-281.
- Sonoda, D.Y. (2002) Análise econômica de sistemas alternativos de produção de tilápias em tanques rede para diferentes mercados. Universidade de São Paulo. (Dissertação) Mestrado em Ciências – Área de Concentração Ciência e Tecnologia de Alimentos, pp. 77.
- Sumpter, J.P. (1997) The endocrinology of stress. *Fish stress and health in aquaculture*. Cambridge, UK: Cambridge University, pp. 95-118.
- Tavares-Dias, M., Moraes, F.R. & Imoto, M.E. (2008) Hematological parameters in two neotropical freshwater teleost, *Leporinus macrocephalus* (Anostomidae) and *Prochilodus lineatus* (Prochilodontidae). *Bioscience Journal*, **24**, 96-101.
- Thompson, J.C. & HE, B.B. (2006) Characterization of crude glycerol from biodiesel production from multiple feedstocks. *Applied Engineering in Agriculture*, **22**, 261-265.
- Vaz de Arruza, P., Rodrigues, R.C.L.B. & Felipe, M.G.A. (2007) Glicerol um subproduto com grande capacidade industrial e metabólica. *Revista Analytica*, **26**, 56-62.

Velisek, J., Stara, A., Li, Z.H., Silovska, S. & Turek, J. (2011) Comparison of the effect of four anesthetics on blood biochemical profiles and oxidative stress biomarkers in rainbow trout. *Aquaculture*, **310**, 369-375.

Viana, A. Carvalho, J.C. & Gomes, A. (2010) Aquicultura e pesca. *Brasil 2022: Trabalhos preparatórios*. Brasília: Presidência da República, Secretaria de assuntos Estratégicos, pp. 61-69.

Weatherley, A.H. & GILL, H.S. (1987) The biology of fish growth. London: *Academic press*, pp. 443.

Zanoni, M.A., Caetano Filho, M. & Leonhardt, J.H. (2000) Performance de crescimento de diferentes linhagens de tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (Linnaeus, 1757), em gaiolas. *Acta Scientiarum*, **22**(3), 683-687.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVOS GERAIS

O presente trabalho avaliou o glicerol bruto, derivado da fabricação do biodiesel, nas dietas de tilápia do Nilo em rações peletizadas, com níveis de substituição do milho pelo glicerol de 0, 20, 40, 60, 80 e 100% para animais com peso médio de $11,46 \pm 2,18\text{g}$ e inclusão de 0, 6, 12, 18 e 24% em substituição ao milho para animais com peso médio de $189,98\text{g} \pm 4,5\text{g}$.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar o efeito do glicerol bruto sobre o metabolismo, fisiologia e desempenho produtivo da tilápia do Nilo quando alimentadas com níveis de glicerol em substituição ao milho nas dietas. Os parâmetros avaliados nos experimentos foram: desempenho zootécnico, composição química corporal, morfologia do hepatopâncreas e do intestino. Para o segundo trabalho (crescimento engorda) foram avaliados os picos de glicose sanguínea nos tratamentos.

I – Crescimento, composição química corporal e morfologia do tecido hepático em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com glicerol bruto

Elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica, a ser submetida no periódico *Aquaculture Nutrition*. Disponível em: [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095)

Crescimento, composição química corporal e morfologia do tecido hepático em alevinos de tilápia do Nilo alimentados com glicerol bruto

A. MOESCH¹, I.V. ZADINELO¹; F. MEURER², L. D. dos SANTOS²

¹ Mestre em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP 85950-000, Palotina, Paraná, Brasil. augusto_moesch@hotmail.com; izabelzadine@gmail.com, +55 (44) 9999-2776

² Professor (a) do Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável (PGADS); Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos e Qualidade de Água, Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, UFPR – Setor Palotina, Palotina, Paraná, Brasil; liliandena@gmail.com; fabio_meurer@yahoo.com.br

1. Resumo: Este estudo consistiu na determinação do melhor nível de substituição do milho por glicerol bruto como fonte de energia para alevino de tilápia do Nilo, avaliando o desempenho zootécnico, composição química corporal e histologia dos peixes. Foram utilizados 300 tilápias do Nilo com peso médio de $11,46 \pm 2,18$ g, distribuídos em 30 caixas de polietileno de 60 L, em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos (níveis de substituição do milho da ração pelo glicerol bruto em 0, 20, 40, 60, 80 e 100%) e cinco repetições. O manejo alimentar foi constituído por três alimentações diárias. Foi verificado aumento ($P < 0,05$) na proteína bruta e umidade corporal, e diminuição do extrato etéreo e da matéria mineral corporal de peixes alimentados com níveis crescentes de glicerol. Os parâmetros zootécnicos influenciados pela presença do glicerol na dieta foram o índice hepatossomático ($P < 0,05$) que apresentou comportamento quádratico e a conversão alimentar ($P < 0,05$), apresentando comportamento linear decrescente com o aumento dos níveis de glicerol. Não houve diferenças ($P > 0,05$) na área dos hepatócitos e não foram constatadas alterações na morfologia do hepatopâncreas. O glicerol bruto pode substituir todo o milho em rações peletizadas para a tilápia do Nilo durante a fase de alevino sem causar prejuízos aos peixes.

1.1 Palavras chave: aquicultura, nutrição de peixes; linhagem Gift, *Oreochromis niloticus* subproduto do biodiesel.

Growth, body composition and morphology of liver tissue in juvenile Nile tilapia fed crude glycerol

1.2 Abstract: This study consisted in determining the best level of replacement of corn by crude glycerol as an energy source for Nile tilapia fingerlings, evaluating the growth performance, body composition and histology of the fish. Three hundred Nile tilapia were and distributed used with an average weight of 11.46 ± 2.18 g, in 30 boxes of 60 L polyethylene, in a completely randomized design with six treatments (levels of substitution of corn ration by crude glycerol at 0, 20, 40, 60, 80 and 100%) and five replications. The feeding regime consisted of three daily feedings. Increase ($P < 0.05$) in crude protein and body moisture, and decreased lipids and body mineral content of fish fed increasing levels of glycerol was observed. The performance parameters influenced by the presence of glycerol in the diet were hepatosomatic index ($P < 0.05$) than quadratically and feed conversion ($P < 0.05$), decreased linearly with increasing levels of glycerol. No differences were found ($P > 0.05$) in the area of hepatocytes and no changes were observed in the morphology of the hepatopancreas. The crude glycerol can replace all the corn in pelleted feed for Nile tilapia fingerlings during the no harm to the fish.

1.3 Keywords: aquaculture, byproduct of biodiesel, fish nutrition, Gift lineage, *Oreochromis niloticus*.

2. INTRODUÇÃO

Com a expansão da aquicultura, principalmente da tilapicultura no mundo, o uso de alimentos alternativos é almejada, para melhor eficiência de utilização e maior produção, além do barateamento de rações que correspondem a mais de 50% dos custos operacionais na aquicultura intensiva (El-Sayed 2006; Boscolo *et al.* 2001).

A criação de tilápias do Nilo é um dos principais segmentos da aquicultura no mundo, está relacionada à facilidade na obtenção de larvas, sua rusticidade, bastante tolerante a condições adversas de qualidade de água e manejo, além disso, as características da carcaça permitem fácil filetagem, resultando na ausência de espinhos na carne, a qual tem consistência firme, sabor suave e ótima aceitação no mercado. O cultivo da espécie, tem se apresentado como uma alternativa importante para a piscicultura, pois apresenta um pacote tecnológico de cultivo dominado por técnicos e produtores (Meurer *et al.* 2009).

Em termos de demandas de pesquisa, é contínua a busca pela qualidade da carne, dos ingredientes da ração, da sanidade, da ambiência e do bem-estar da população. Atualmente, vários subprodutos estão sendo testados na alimentação animal, um deles é o glicerol bruto derivado da fabricação do biodiesel. Um grande receio é que o excesso de glicerol bruto

produzido, altamente poluidor, possa ser descartado de maneira irresponsável no meio ambiente (Costa 2008), e essa é uma preocupação que faz com que o subproduto seja cada vez mais estudado para a utilização na indústria alimentícia.

O uso do glicerol na alimentação animal foi alvo de estudo no passado (Chambers & Deuel 1925; Bernal *et al.* 1978; Wagner 1994, Simon *et al.* 1996) e, com o recente estímulo á produção de biodiesel e a conseqüente disponibilidade de glicerol bruta, houve novo interesse no uso desse co-produto em rações.

O glicerol desempenha um papel fundamental no metabolismo, sendo um componente estrutural importante de triglicerídeos e fosfolípídios, fornecendo energia nas vias glicolíticas e ácidos carboxílicos (Lin 1977). Uma das possíveis utilizações do glicerol bruto é a sua utilização na alimentação animal, como aves (Cerrate *et al.* 2006; Lammers *et al.* 2008a), suínos (Kijora *et al.* 1995; Groesbeck *et al.* 2008; Lammers *et al.* 2008b; Berenchtein 2010), ruminantes (Schröder & Südekum 2007; Abdalla 2008; Donkin 2008) e peixes (Menton *et al.* 1986; Li *et al.* 2010; Neu *et al.* 2012). Dozier *et al.* (2008) sugerem a utilização do glicerol bruto como uma alternativa de substituição aos ingredientes fontes de carboidratos, pelo seu valor energético.

Desta maneira o estudo do glicerol na alimentação da tilápia do Nilo é importante, pois pode proporcionar um aumento da sustentabilidade de duas cadeias produtivas. A do biodiesel, possibilitando mais um destino para o seu subproduto e a tilapicultura, pois pode oferecer mais um alimento para compor a formulação de suas rações, portanto, possibilitando o barateamento desta.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o melhor nível de substituição do milho por glicerol bruto como fonte de energia para alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em rações peletizadas, avaliando seus efeitos sobre o desempenho zootécnico, índice hepato-somático, composição química corporal e histologia do hepatopâncreas.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOAq), do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, juntamente com o Laboratório de Nutrição, Bromatologia e Qualidade de Água na Aquicultura, Setor Palotina,

na Universidade Federal do Paraná (UFPR). O ensaio da substituição do milho da ração pelo glicerol bruto derivado da fabricação de biodiesel foi conduzido por um período de 30 dias.

A estrutura física utilizada constituiu-se de um sistema de recirculação de água com 30 caixas plásticas com 60 L de volume útil (Anexo 1) e mais duas caixas de 500 L, sendo a primeira utilizada como biofiltro (Anexo 2) composto por pedra brita, telas de diversas malhas e *bio balls*, e a segunda era utilizada como caixa de captação que devolvia a água limpa para as caixas experimentais. O sistema de oxigenação da água era composto de um compressor de ar elétrico, ligado por meio de tubulação de PVC a mangueiras plásticas e uma pedra porosa por unidade experimental. A renovação diária foi da ordem de cinco vezes o seu volume. A manutenção da temperatura da água foi feita por meio de um aquecedor de 8.000 W com termostato.

As variáveis físico-químicas da água dos tanques foram aferidas, sendo que a temperatura e oxigênio dissolvido eram medidos diariamente às 8h30min e às 16h30min. O pH da água de cada unidade experimental, saída da caixa de captação e saída do biofiltro, foram aferidos semanalmente pela manhã. A temperatura e oxigênio dissolvido foram obtidos por meio do medidor de oxigênio dissolvido LUTRON DO-5519. O pH foi determinado por meio de pHmetro de bancada digital (TECNOPON mPA 210).

A amônia foi determinada segundo Koroleff (1976), o nitrito foi determinado segundo Baumgarten (1996), alcalinidade total e dureza foram determinadas por titulação segundo Macêdo (2003).

Foram utilizados 300 alevinos de tilápia do Nilo da linhagem GIFT ($11,46 \pm 2,18$ g), distribuídos aleatoriamente 10 peixes por caixa, em um delineamento inteiramente casualizado com seis tratamentos e cinco repetições. Nos tratamentos foram considerados seis níveis de substituição do milho da ração pelo glicerol bruto derivado da fabricação de biodiesel, respectivamente de 0, 20, 40, 60, 80 e 100%, com base na energia digestível.

No manejo, os peixes eram alimentados três vezes ao dia às 08h00min, 12h00min e 18h00min. A quantidade de ração foi fornecida *ad libitum*, até a saciedade aparente dos animais, para que não houvesse sobras. As caixas eram sifonadas duas vezes ao dia, para retirada das fezes e possíveis sobras de ração.

Foram formuladas seis rações isoprotéicas, isoenergéticas, isofosfóricas e isoaminoácídicas para lisina e metionina+cistina. Os alimentos utilizados na composição das rações foram o farelo de soja, milho, óleo de soja, fosfato bicálcico, calcário calcítico, premix vitamínico-mineral e Butil Hidroxi Tolueno (BHT) (Tabela 1), com os valores de

digestibilidade propostos por Boscolo *et al.* (2002) e Pezzato *et al.* (2002), além do glicerol bruto, com energia digestível aparente de tilápia do Nilo de 3.126 kcal/kg (Meurer *et al.* 2012).

Tabela 1 Composição alimentar das dietas experimentais fornecidas aos alevinos de tilápia do Nilo

Ingredientes (%)	Substituição do milho pelo glicerol na dieta (%)					
	0	20	40	60	80	100
Farelo de soja	67,35	68,41	69,48	70,54	71,60	72,67
Milho	28,00	22,40	16,80	11,20	5,60	0,00
Fosfato bicálcico	2,35	2,39	2,43	2,47	2,50	2,54
Óleo de soja	1,06	1,07	1,09	1,10	1,11	1,13
Premix	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Inerte	0,00	0,49	1,00	1,52	2,03	2,54
Calcário	0,22	0,21	0,18	0,15	0,12	0,09
BHT *	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Glicerol	0,00	4,00	8,00	12,00	16,00	20,00
Nutrientes						
Ácido linoléico %	1,59	1,50	1,41	1,31	1,22	1,13
Amido %	26,53	23,19	19,84	16,50	13,15	9,81
Cálcio %	0,89	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Matéria mineral %	7,84	8,52	9,19	9,87	10,54	11,22
Energia digestível (kcal/kg)	3.000,00	3.000,00	3.000,00	3.000,00	3.000,00	3.000,00
Energia bruta (kcal/kg)	4.095,23	4.073,40	4.051,57	4.029,74	4.007,91	3.986,09
Fibra bruta %	4,53	4,48	4,44	4,39	4,34	4,30
Fósforo total %	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90	0,90
Extrato etéreo %	3,81	3,61	3,41	3,21	3,01	2,80
Lisina total %	1,94	1,96	1,97	1,99	2,00	2,02
Matéria seca %	91,74	91,89	92,04	92,19	92,35	92,49
Metionina+ cistina total %	0,96	0,95	0,94	0,93	0,93	0,92
Proteína bruta %	33,49	33,52	33,54	33,56	33,58	33,60
Proteína digestível %	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00	30,00

[†] Complemento vitamínico e mineral níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 1.200.000 UI; vit. D3 - 200.000 UI; vit. E - 12.000 mg; vit. K3 - 2.400 mg; vit. B1 - 4.800 mg; vit. B2 - 4.800 mg; vit. B6 - 4.000 mg; vit. B12 - 4.800 mg; ácido fólico - 1.200 mg; pantotenato de cálcio - 12.000mg; vit. C - 48.000 mg; biotina - 48 mg; colina - 65.000 mg; niacina - 24.000 mg; Fe - 10.000 mg; Cu - 6.000 mg; Mn - 4.000 mg; Zn - 6.000 mg; I - 20 mg; Co - 2 mg; Se - 20 mg. *BHT = Butil Hidroxi Tolueno

Para a fabricação das rações (Anexo 3) os alimentos foram moídos em um triturador tipo martelo em peneira de 0,5 mm, posteriormente, misturados de acordo com a sua formulação e então processadas. A peletização foi feita em uma peletizadora experimental pelo umedecimento prévio da mistura com água à temperatura de 50 ± 2 °C. Após a

peletização, estas foram secas em uma estufa de ventilação forçada por 24 h a 55 °C e posteriormente armazenada sob refrigeração para a sua utilização.

Ao final do experimento os animais foram mantidos em jejum por 24 h para o esvaziamento do trato gastrointestinal e após este período os peixes foram imersos em solução de água com óleo de cravo (Taylors & Roberts, 1999) em concentrações de (70 a 80 mg L⁻¹), para serem anestesiados, seguindo os estudos de Vidal *et al.* (2008), que observaram que 75 mg L⁻¹ de óleo de cravo é a concentração adequada para induzir a perda total de movimento em juvenis de tilápia do Nilo. Posteriormente os peixes foram abatidos, (aprovado no comitê de ética, protocolo número 09/2012-CEUA, da Universidade Federal do Paraná) destes, metade foi utilizado para avaliar o desempenho zootécnico, sendo a outra utilizada para análise da composição química corporal e avaliação histológica do hepatopâncreas.

Foram efetuadas as medidas individuais do desempenho zootécnico: peso total (g), comprimento total (cm), comprimento padrão (cm), comprimento de cabeça (cm), altura (cm), largura (cm), taxa de crescimento específico (g/dia), conversão alimentar (%), rendimento de carcaça com e sem cabeça (%), rendimento de tronco (%), rendimento do filé (%) e índice hepatossomático (%) (Anexo 4). É considerado rendimento de tronco o peixe eviscerado, sem cabeça, sem pele e nadadeiras; rendimento de carcaça com cabeça é o peixe apenas eviscerado; rendimento de carcaça sem cabeça é o peixe eviscerado e sem cabeça e comprimento padrão é à medida que se estende do começo da boca até o início da nadadeira caudal.

O ganho em peso diário dos peixes foi calculado pela seguinte equação:

$$GPD (g) = \frac{PF - PI}{\text{Número de dias}}$$

Em que: GPD = ganho em peso médio diário.

PF = peso final

PI = peso inicial

Para a determinação da taxa de crescimento específico, foi empregado a equação abaixo, utilizando-se transformações logarítmicas.

$$TCE = \frac{(\ln \text{ peso total final}) - (\ln \text{ peso total inicial})}{\text{tempo de experimento (dias)}} \times 100$$

Onde: $TCE = \text{Taxa de crescimento específico}$

O índice hepatossomático foi calculado pela seguinte equação:

$$IHS = \frac{\text{Peso Fígado ou Hepatopâncreas}}{\text{Peso Total}} \times 100$$

Onde: $IHS = \text{índice hepatossomático}$

A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo da ração pelo ganho de peso dos peixes, obtido no período.

$$C.A. = \frac{\text{Consumo de Ração}}{\text{Ganho de Peso dos Peixes}}$$

Em que: $C.A. = \text{conversão alimentar}$

Para determinação da composição química do peixe inteiro (Anexo 5), estes foram moídos em moedor de carne até se obter uma amostra homogênea. Posteriormente, foram avaliados quanto ao extrato etéreo (%), proteína bruta (%), matéria mineral e (%) e matéria seca (%), dos peixes de cada unidade experimental, todas as amostras foram analisadas de acordo com a metodologia proposta por Silva e Queiroz, (2002). As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição, Bromatologia e Qualidade de Água na Aquicultura da UFPR Setor Palotina.

O hepatopâncreas de todos os peixes foram pesados, e para avaliação histológica foram utilizados três peixes de cada unidade experimental, fixados em formol 10%, por 12 horas e posteriormente conservados em álcool 70%. Foram então desidratados em série ascendente de álcool, diafanizados em xilol, e incluídas em parafina, para a obtenção de cortes histológicos semiseriados. Foi realizada a microtomia, obtendo-se cortes histológicos de 5µm com auxílio de navalha descartável em micrótomo automático (LEICA, RM-2155) (Anexo 7) e os cortes histológicos foram corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) (Anexo 6). A foto documentação (captura de imagens) foi realizada no fotomicroscópio Zeiss Primo Star em

objetiva de 40X, utilizando-se sistema de imagens computadorizado (Image Pro Plus – Versão 5.2-Media Cibernética). A morfometria do hepatopâncreas foi realizada em 20 hepatócitos por animal sendo, mensurado a área total do hepatócito.

Os dados obtidos ao final para os parâmetros de desempenho zootécnico, índice hepatossomático, composição química do peixe inteiro e histologia do hepatopâncreas, foram submetidos à análise de variância em nível de 5% de probabilidade (ANOVA) e em caso de diferenças foi aplicado à análise de regressão através do programa estatístico SAEG (UFV 2000). (Sistema de Análise Estatística e Genética)

4. RESULTADOS

4.1 QUALIDADE DE ÁGUA

As variáveis físico-químicas da água não diferiram entre si ($P > 0,05$). Devido ser um sistema de recirculação foram verificadas as médias entre todos os tratamentos: nitrito ($0,060 \pm 0,005 \text{ mg L}^{-1}$), amônia ($0,097 \pm 0,052 \text{ mg L}^{-1}$), alcalinidade ($92,078 \pm 3,017 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$), dureza ($35,395 \pm 1,367 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$), temperatura ($27,598 \pm 0,044 ^\circ \text{C}$), oxigênio dissolvido ($5,541 \pm 0,268 \text{ mg L}^{-1}$) e pH ($7,380 \pm 0,053$).

4.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

O peso final, rendimento de carcaça com e sem cabeça, rendimento de tronco, rendimento de filé, taxa de crescimento específico, comprimento final e padrão, comprimento de cabeça, altura e largura dos peixes alimentados com níveis crescentes de glicerol em substituição ao milho, não diferiram entre si ($P > 0,05$). O mesmo não foi observado para os parâmetros de conversão alimentar e índice hepatossomático dos alevinos de tilápia do Nilo ($P < 0,05$) (Tabela 2).

Tabela 2 Desempenho zootécnico de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com níveis crescentes de glicerol bruto na dieta

Variáveis	Dietas (% de substituição do milho pelo glicerol)						CV (%)
	0	20	40	60	80	100	
Peso final (g) ^{ns}	29,9	28,3	28,2	29,1	31,1	31,9	11,4
Ganho de peso (g dia ⁻¹) ^{ns}	0,62	0,56	0,56	0,59	0,66	0,68	10,8
Rendimento de carcaça com cabeça (%) ^{ns}	87,7	86,8	82,7	87,7	87,7	86,9	4,7
Rendimento de carcaça sem cabeça (%) ^{ns}	63,0	62,4	57,5	62,5	62,9	63,0	5,1
Rendimento de tronco (%) ^{ns}	46,8	45,7	44,2	46,0	46,1	46,5	7,3
Rendimento de filé (%) ^{ns}	33,5	31,5	33,5	33,2	33,7	32,4	7,2
*TCE (%) ^{ns}	3,08	2,91	2,89	3,00	3,25	3,33	11,8
Comprimento total (cm) ^{ns}	11,7	11,6	11,0	11,1	11,6	11,6	6,8
Comprimento padrão (cm) ^{ns}	9,33	9,08	9,05	9,20	9,42	9,25	5,0
Comprimento de cabeça (cm) ^{ns}	3,19	3,12	3,18	3,25	3,29	3,20	5,2
Altura (cm) ^{ns}	3,58	3,45	3,48	3,47	3,62	3,61	5,44
Largura (cm) ^{ns}	1,59	1,50	1,44	1,53	1,49	1,58	7,10
Índice hepatossomático (%) ¹	1,84	1,74	1,33	1,44	1,46	1,43	14,1
Conversão alimentar (%) ²	1,55	1,55	1,52	1,54	1,37	1,34	6,0

^{ns} Médias não significativas a 5% de probabilidade (ANOVA). *TCE (%) = taxa de crescimento específico (%) CV (%) = coeficiente de variação. ¹ Efeito quadrático: $y = 0,00009x^2 - 0,0132x + 1,8618$; $R^2 = 0,7967$; ² Efeito linear: $y = -0,0022x + 1,5905$; $R^2 = 0,7543$.

Foi observado melhora linear ($P < 0,05$) na conversão alimentar com o aumento do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de alevinos de tilápia do Nilo (Fig. 1).

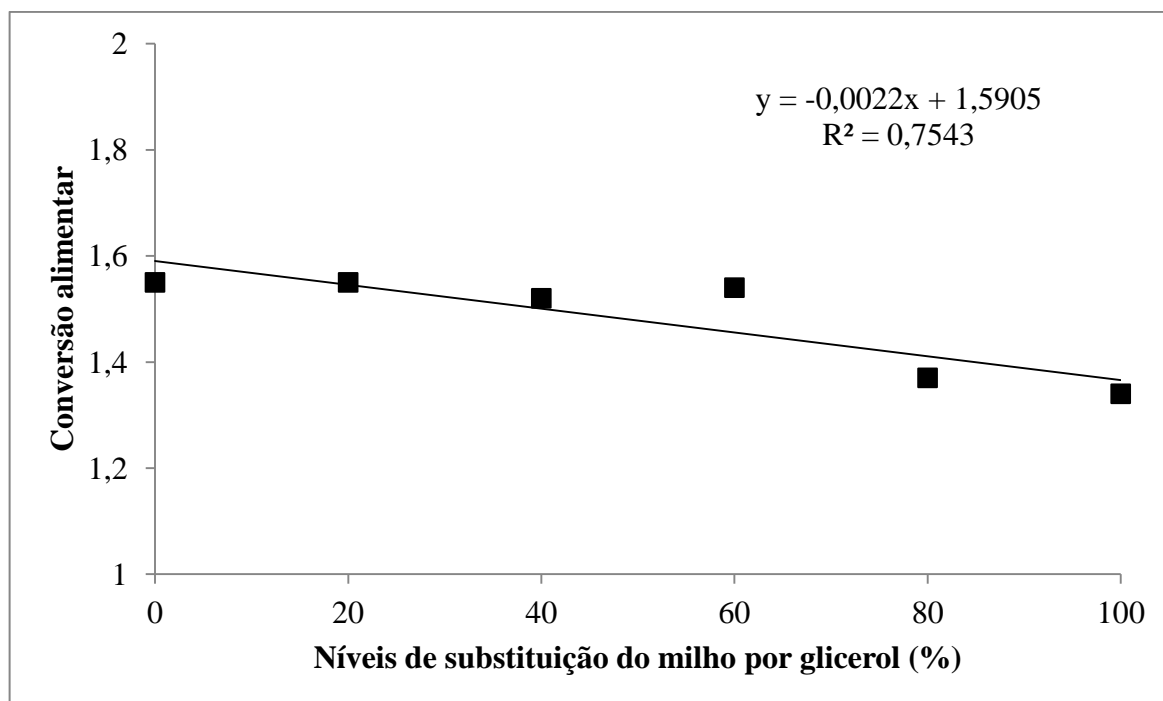


Figura 1 Comportamento da conversão alimentar em alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto na dieta

Pode-se observar nos resultados de índice hepatossômático, um efeito quadrático com a inclusão de glicerol em substituição ao milho, sendo determinado como o valor mínimo o nível de 72% de substituição (Fig. 2), fato possivelmente relacionado com a diminuição dos depósitos de glicogênio e/ou gordura hepática.

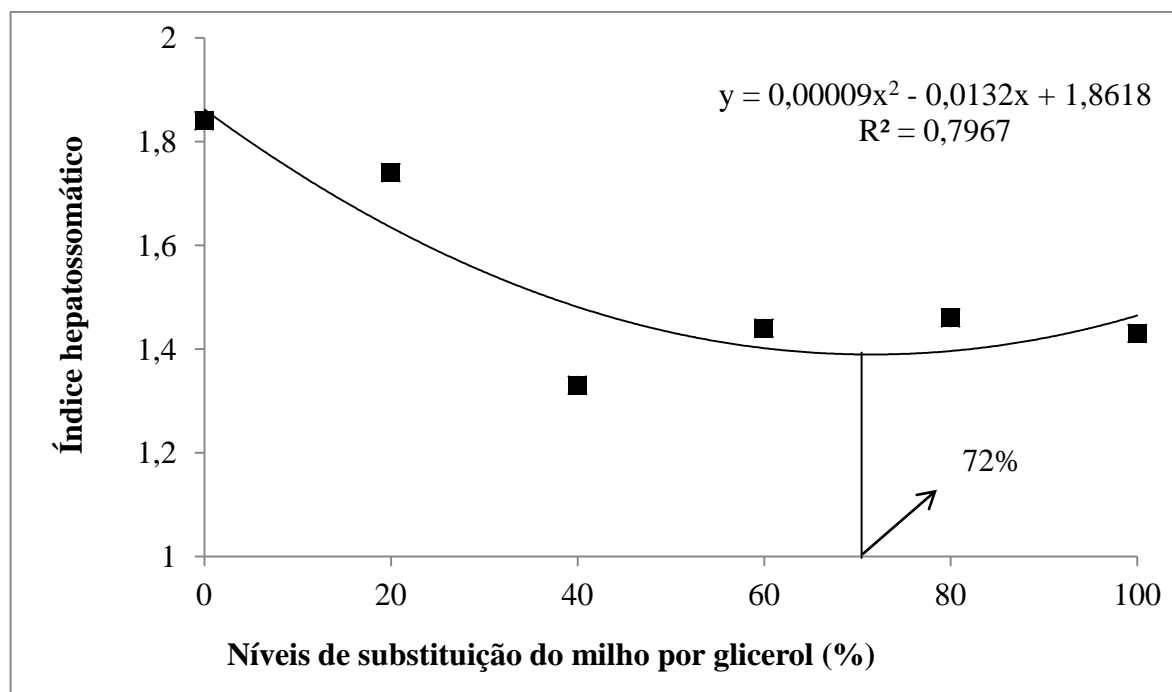


Figura 2 Índice hepatossomático (IHS) em alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho na dieta

4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PEIXES

Em relação a composição química corporal dos peixes houve diferenças ($P < 0,05$) para todos os parâmetros avaliados, para alevinos de tilápia do Nilo alimentados com diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol bruto na dieta (Tabela 3).

Tabela 3 Composição química corporal dos alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas

Parâmetros	Dietas (% de substituição do milho pelo glicerol)						CV (%)
	0	20	40	60	80	100	
Proteína bruta (%) ¹	11,725	12,123	14,949	14,511	14,097	14,101	9,790
Extrato etéreo (%) ²	1,441	1,191	1,160	1,067	1,052	1,108	12,230
Umidade (%) ³	74,422	74,424	75,620	75,593	77,013	77,019	1,534
Matéria mineral (%) ⁴	3,001	2,474	2,769	2,619	2,521	2,761	7,211

CV (%) = coeficiente de variação. *TCE (%) = taxa de crescimento específico (%) CV (%) = coeficiente de variação (%). ¹ Efeito quadrático: $y = 0,00007x^2 + 0,0915x + 11,455$; $R^2 = 0,7871$; ² Efeito quadrático: $y = 0,00007x^2 - 0,0102x + 1,4201$; $R^2 = 0,9557$; ³ Efeito linear: $y = -0,0296x + 74,201$; $R^2 = 0,9103$; ⁴ Efeito quadrático: $y = 0,00001x^2 - 0,0118x + 2,9119$; $R^2 = 0,4348$.

Na avaliação foi verificado que níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho promoveram um aumento ($P < 0,05$) de deposição de proteína e umidade na carcaça,

enquanto houve um comportamento inverso nos teores de extrato etéreo e de matéria mineral, que decresceram ($P < 0,05$) com a substituição do milho pelo glicerol na dieta (Tabela 3).

A proteína bruta apresentou um efeito quadrático, com o aumento dos níveis de glicerol na dieta, sendo estipulado o valor máximo de proteína corporal com substituição de 65% do milho por glicerol (Fig. 3).

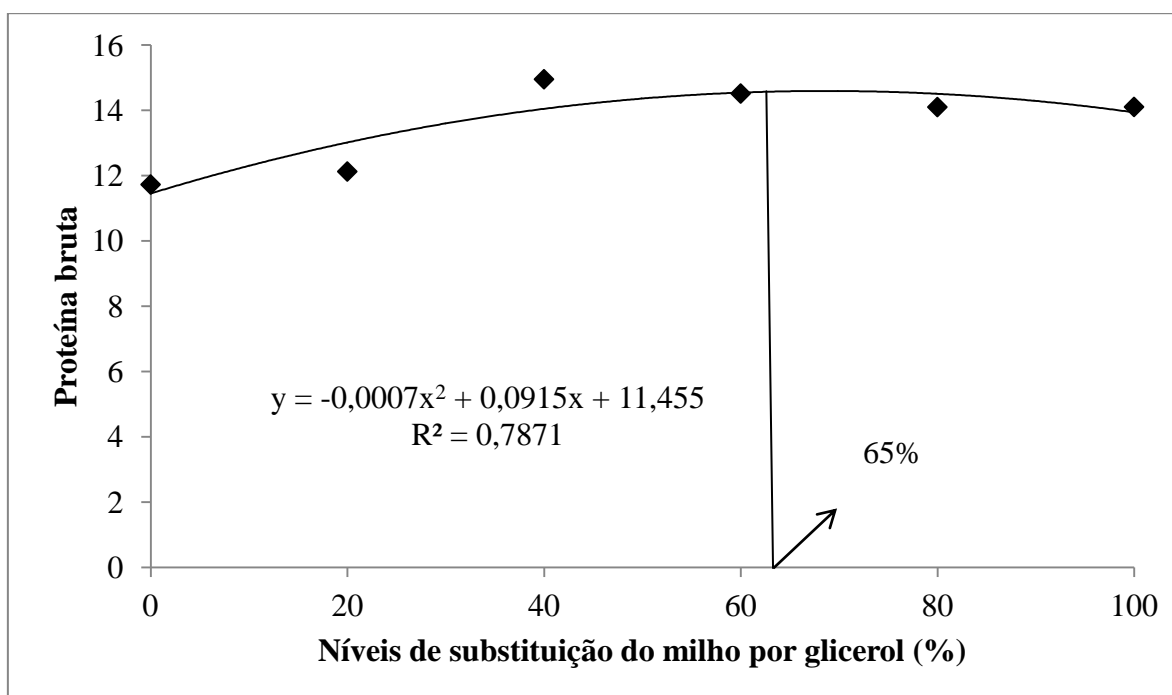


Figura 3 Proteína bruta na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas

Em relação ao extrato etéreo, seu efeito foi quadrático ($P < 0,05$), sendo apresentado o valor mínimo na composição dos peixes com 72% de substituição do milho pelo glicerol (Fig. 4).

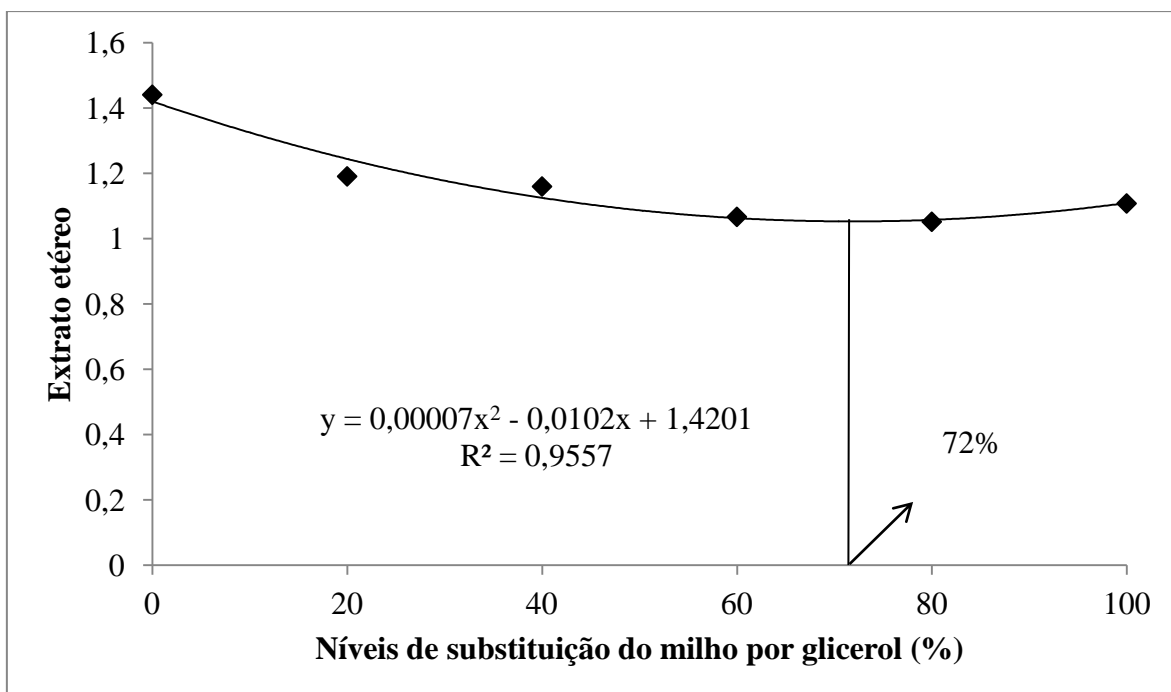


Figura 4 Extrato etéreo na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas

Foi observado um aumento linear crescente da umidade com o aumento dos níveis de glicerol em substituição ao milho (Fig. 5).

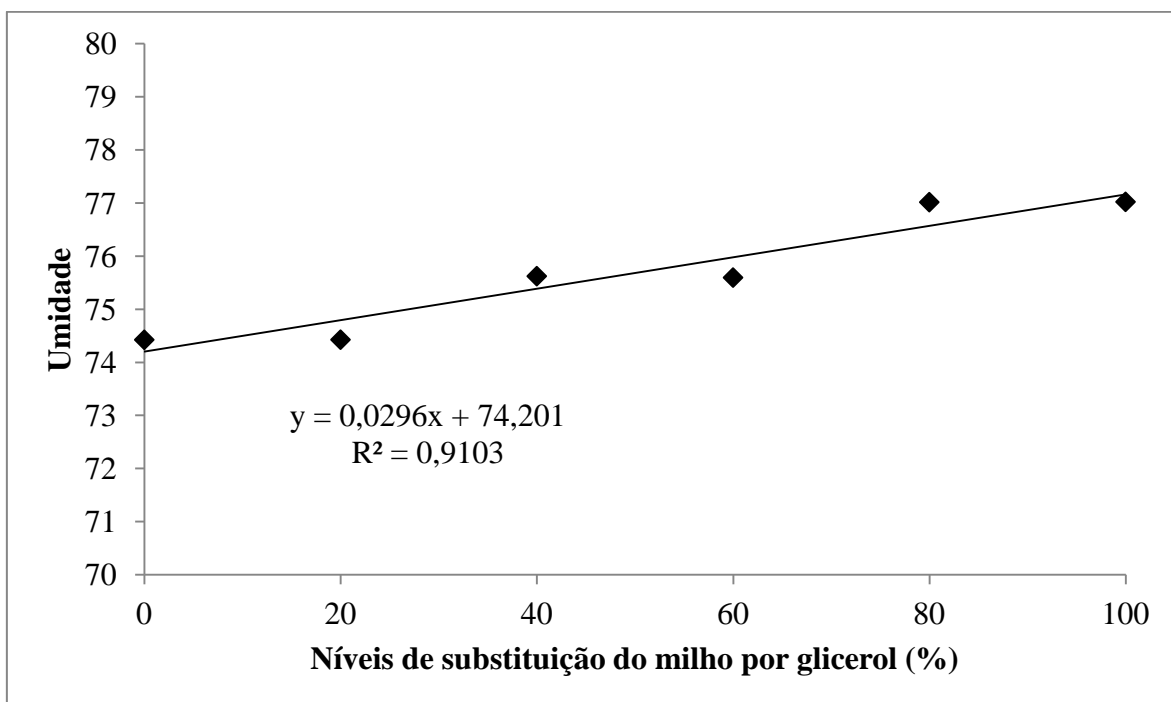


Figura 5 Umidade na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas

Pode-se verificar diferenças ($P < 0,05$) na matéria mineral, a qual apresentou um efeito quadrático com o aumento dos níveis de substituição e, o valor mínimo foi observado com 59% de substituição do milho pelo glicerol bruto na dieta (Fig. 6).

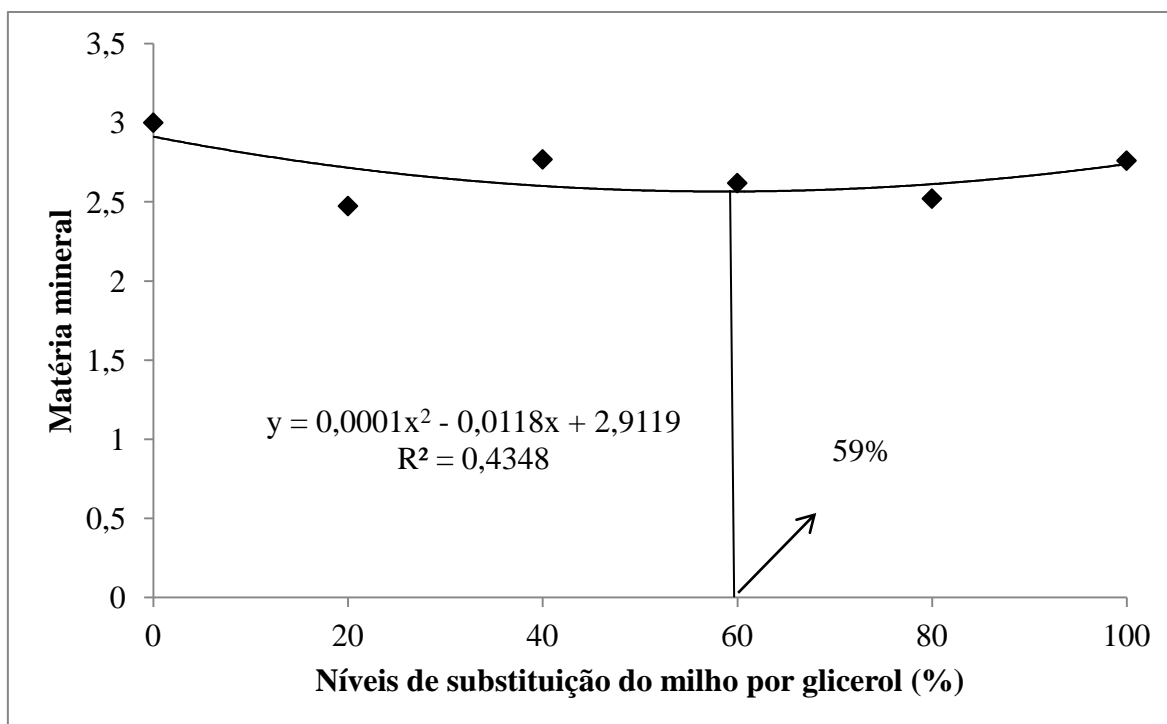


Figura 6 Matéria mineral na composição da carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas

4.4 HISTOLOGIA DO HEPATOPÂNCREAS

Foi observado na morfologia dos hepatócitos que estes apresentaram formato arredondado e arranjado em organização ligeiramente cordonal, em torno dos capilares sinusóides (Fig. 7). Os hepatócitos estavam caracterizados pelo seu núcleo central com alta basofilia e citoplasma vacuolizado.

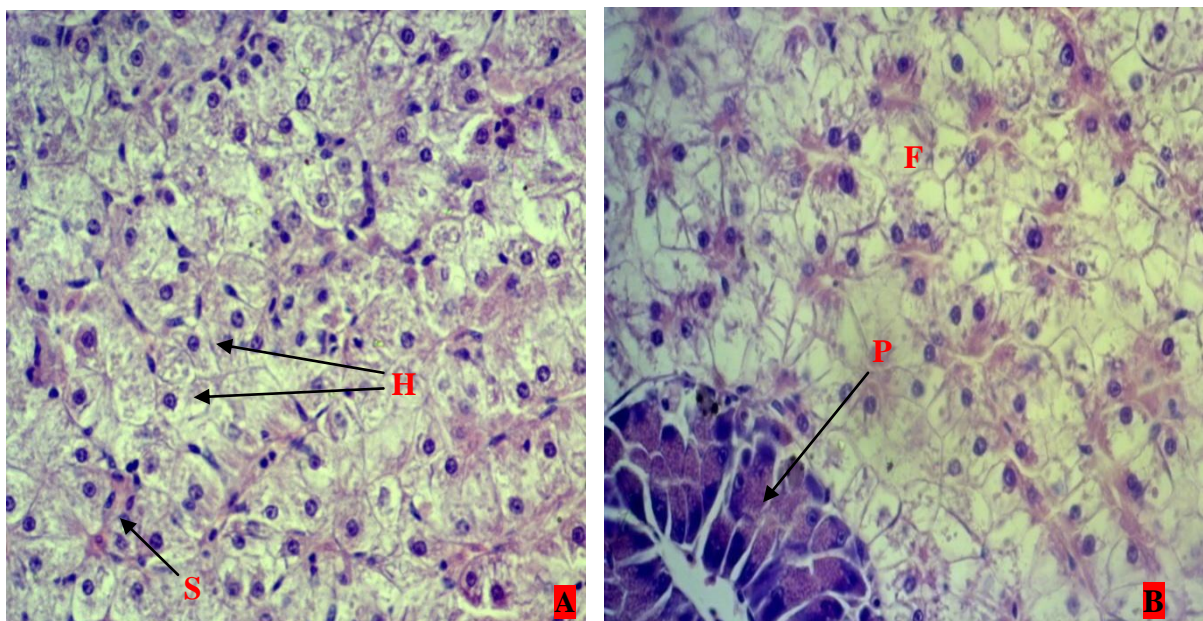


Figura 7 A. Fotomicrografia dos aspectos histológicos dos hepatócitos de tilápia do Nilo alimentadas com inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho. Disposição dos hepatócitos (H) circundados por capilares sinusóides (S). B. Tecido pancreático exócrino intrahepático (P) Fígado (F). Corado com HE. Aumento de 40x.

Não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) (Tabela 4) nas análises morfométricas nas áreas dos hepatócitos, dos peixes alimentados com diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol bruto na dieta.

Tabela 4 Morfometria do hepatopâncreas, tamanho das áreas dos hepatócitos do fígado dos alevinos de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho

Parâmetro	Dietas (% de substituição do milho pelo glicerol)						CV (%)
	0	20	40	60	80	100	
Área dos hepatócitos (μm) ^{ns}	190,98	194,89	211,22	226,44	188,15	188,19	7,786

^{ns} Médias não significativas a 5% de probabilidade (ANOVA). CV = coeficiente de variação.

5. DISCUSSÃO

5.1 QUALIDADE DE ÁGUA

O sucesso da piscicultura está diretamente relacionado com as condições físicas e químicas do solo e da água onde ela está instalada (Urbinati e Carneiro, 2004). Vários fatores determinam a qualidade da água de um viveiro: temperatura, oxigênio dissolvido, pH, alcalinidade, dureza e concentração de resíduos metabólicos, principalmente amônia e nitrito,

assim como de outras substâncias nocivas, como poluentes em geral.

Os valores encontrados para nitrito não diferiram entre os tratamentos ($P>0,05$) e estavam dentro da faixa indicada como adequada para piscicultura. Segundo Sipaúba-Tavares (1994) o nível máximo para nitrito é de $0,5 \text{ mg L}^{-1}$ em sistemas de produção de peixes, os resultados observados no presente trabalho tiveram média de $0,06 \text{ mg L}^{-1}$. O nitrito é muito tóxico para os peixes, pois se combina à hemoglobina do sangue originando a metahemoglobina, a qual não consegue transportar o oxigênio, resultando em hipóxia tecidual (Knudsen & Jensen, 1997). Também provoca alterações hepáticas, e tem efeito vasodilatador (Costa, 2002) podendo levar à morte do peixe (Tomasso, 1994). Algumas espécies expostas a concentrações de nitrito não morrem, mas apresentam sintomas de estresse e aumento da susceptibilidade às enfermidades bacterianas, o que pode levar a redução no crescimento e ganho de peso (Hanson & Grizzle, 1985).

No presente trabalho não foi verificado nenhuma influência da amônia sobre os parâmetros zootécnicos, os valores médios encontrados foram de $0,097 \text{ mg L}^{-1}$. Em estudo realizado por Karasu-Benli e Köksal (2005), a amônia determinada para larvas e juvenis de tilápia do Nilo foi, respectivamente de $1,01$ e $7,4 \text{ mg L}^{-1}$, dados próximos ao do presente trabalho. A tilápia do Nilo revelou ser uma das espécies mais tolerantes à amônia, até mesmo mais tolerante que o "catfish", *Ictalurus punctatus*, que apresenta valores para amônia variando entre $0,98$ e $4,2 \text{ mg L}^{-1}$ (EPA, 1999) e era, até então, considerada a espécie mais tolerante à amônia.

Os valores médios de alcalinidade e dureza encontrados durante o período experimental estavam de acordo com os recomendados na literatura. Águas com alcalinidade menor que $20 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ apresentam baixo poder tamponante, estando sujeitas a grandes variações diárias de pH. Normalmente a dureza e a alcalinidade total são equivalentes, mas existem águas com baixo teor de dureza e alto teor de alcalinidade e águas com alto teor de dureza e baixo teor de alcalinidade (Wurts; Masser, 2004). As médias no presente estudo foram de $35,394 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ para dureza e $92,078 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ para alcalinidade. Para o cultivo de peixes, a dureza deve permanecer entre 20 e $75 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ e a alcalinidade, entre 20 e $300 \text{ mg L}^{-1} \text{ CaCO}_3$ (Albarez & Matos, 2007).

A temperatura e oxigênio dissolvido ficaram dentro dos limites toleráveis para a espécie conforme relatado por Proença & Bittencourt (1994), com respectivas médias entre os tratamentos, $27,598^\circ\text{C}$ e $5,541 \text{ mg L}^{-1}$.

Os valores obtidos para o pH da água de cultivo do presente trabalho ficaram dentro dos limites aceitáveis para a criação da espécie, apresentando média entre os tratamentos de 7,380. Segundo Lopes *et al.* (2001), o pH da água é um importante fator para assegurar uma boa produção de peixes. A faixa de pH de 6,5 a 9,0 é usualmente sugerida para a criação de peixes, mas a faixa ótima pode diferir para diferentes espécies.

5.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

Os alevinos de tilápia do Nilo não apresentaram problemas relativo com os níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas e obtiveram um bom desempenho. O glicerol bruto é um importante componente estrutural dos triglicerídeos e fosfolípidios, e entra na via metabólica da glicose em uma etapa diferente dos outros precursores glicogênicos (Lehninger 2006). A diminuição na conversão alimentar e no índice hepatossomático com os níveis crescentes do glicerol no presente experimento, demonstra que subproduto é eficientemente utilizado pelos alevinos de tilápia do Nilo que não apresentaram problemas relativos e obteram um bom crescimento.

O glicerol bruto na área de nutrição como ingrediente alternativo na alimentação animal ao contrário do que se imagina há muitas décadas vem sendo estudado, já em 1925 os pesquisadores Chambers & Deuel demonstraram o potencial gliconeogênico do glicerol bruto em cachorros. Outros autores também estudaram o uso do glicerol bruto no passado, Lin *et al.* (1976) verificaram o efeito do glicerol dietético na atividade lipogênica em ratos e frangos.

Os dados do presente estudo corroboram com os resultados de Neu *et al.* (2012) testando quatro níveis crescentes de glicerol bruto (2,5%; 5,0%; 7,5% e 10%) concluíram que para alevinos de tilápias do Nilo o glicerol bruto é eficientemente aproveitado pelos peixes sem diferenças no peso final, ganho de peso, comprimento final e taxa de crescimento específico, demonstrando que pode ser introduzido em dietas práticas para peixes até o nível de 10% sem causar danos aos animais. Entretanto em estudos sobre a adição do glicerol bruto como fonte de energia em dietas de "catfish" Li *et al.* (2010) avaliaram cinco dietas experimentais, com os níveis de 0, 5, 10, 15 e 20% de glicerol bruto, em substituição ao milho, e verificaram diferenças no ganho de peso.

O rendimento de carcaça com cabeça (apenas eviscerado) dos alevinos de tilápia do Nilo do presente trabalho apresentou média de 86,6%, corroborando com os resultados de

Boscolo *et al.* (2010), com a mesma espécie e fase estudada. Os dados de rendimento de tronco do presente estudo foram semelhantes aos de Boscolo *et al.* (2001) para tilápias do Nilo na fase de crescimento. Os mesmos autores corroboram com valores de rendimento de filé do presente experimento, que apresentou uma média de 33% em relação ao peso total, resultado satisfatório, superando as expectativas.

Com relação ao uso do glicerol bruto, em estudo com "catfish" Li *et al* (2010) observaram diminuição no rendimento de filé com os níveis crescentes do glicerol na dieta, dados que não estão de acordo com os do presente estudo, o que pode estar relacionado com a melhor eficiência de deposição na carcaça de "músculo", mesmo com a utilização do subproduto em substituição ao milho, pelos alevinos de tilápia.

A taxa de crescimento específico demonstra que os animais cresceram praticamente ao mesmo ritmo entre os diferentes tratamentos com o uso do glicerol bruto no presente estudo e os resultados são semelhantes ao demonstrado por Vargas *et al.* (2007) para juvenis de tilápia do Nilo que variaram de 2,5 a 3,0%.

O índice hepatossomático e conversão alimentar diferiram ($P>0,05$) entre os tratamentos, porém foram observados melhores resultados com a substituição do milho pelo glicerol bruto nas dietas.

Com 72% de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas para alevinos de tilápia do Nilo, foi verificado uma maior diminuição do índice hepatossomático, o que pode estar relacionado com rápida absorção do subproduto no intestino, que após é eficientemente utilizado pelo fígado e tecidos para a síntese de glicose, (gliconeogênese), ou produção de energia (glicólise e ciclo de Krebs) (Lin 1977). Desta maneira, o glicerol bruto pode afetar positivamente o metabolismo energético dos alevinos de tilápia no estoque de glicogênio e/ou lipídios no fígado, pois em geral os peixes têm a capacidade de estocar grandes quantidades dessas moléculas no fígado, sendo que estas variações energéticas são evidenciadas de maneira significativa no seu peso percebido através da relação hepatossomática (Hoar & Randall 1971). Em pesquisa que possivelmente confirma a diminuição dos depósitos de lipídeos e/ou glicogênio no fígado levando a um menor valor de índice hepatossomático foi demonstrado por Li *et al.* (2010) que encontraram diminuição do lipídios no fígado com níveis crescentes de glicerol bruto, em substituição ao milho em dietas para "catfish".

No presente estudo o aumento do índice hepatossomático no tratamento controle (sem a presença do glicerol bruto nas dietas), demonstra uma provável interferência no metabolismo de carboidratos, desacelerando e/ou diminuindo o processo de geração de

energia e acelerando e/ou aumentando assim os depósitos de energia na forma de glicogênio e/ou lipídeos no fígado. Menton *et al.* 1986, em estudos com truta, afirma que o glicerol bruto não foi um eficiente precursor para lipogênese nem favoreceu a estocagem de glicogênio no fígado. Por fim, Furuya (2007) observou em outros estudos com carpa, truta arco-íris, salmão do atlântico, perca amarela e o pintado, que a utilização de rações com elevados níveis de carboidratos, basicamente o amido podem proporcionar aumento no tamanho e peso do fígado, aumento na deposição de lipídios e/ou glicogênio no fígado.

No presente estudo a substituição de 100% do milho pelo glicerol acarretou em melhora linear ($P < 0,05$) na conversão alimentar dos alevinos de tilápia do Nilo. Este resultado evidencia que o glicerol bruto satisfaz as necessidades energéticas dos peixes como substituto do milho. A melhora na conversão alimentar pode confirmar o efeito do glicerol no metabolismo energético, em economizar a proteína como fonte de energia, a qual pode se depositar como músculo na carcaça. Entretanto estudos enzimáticos são necessários para confirmar tais suposições.

Em pesquisa com juvenis de tilápias do Nilo alimentadas com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição a milho nas dietas, Neu *et al.* (2012), obtiveram dados semelhantes ao do presente trabalho, porém os resultados não diferiram entre si ($P > 0,05$). Neu *et al.* (2012) estudado alevinos de tilápia do Nilo observaram uma alta conversão alimentar com a inclusão do glicerol em substituição ao milho, fato que pode estar relacionado a alimentação ter sido à vontade, contudo os resultados não apresentaram diferenças entre os tratamentos ($P > 0,05$). No presente projeto a ração foi fornecida até a saciedade aparente dos animais, e isso possivelmente foi o motivo para que a conversão não fosse tão alta, mesmo sendo uma ração peletizada, que eleva os níveis de conversão alimentar quando comparada a uma extrusada.

Recentemente vários autores estudaram o uso do glicerol bruto na alimentação animal e bons resultados foram observados com o uso do subproduto na nutrição animal como alimento alternativo. Testando a inclusão de até 15% de glicerol na dieta de galinhas poedeiras, Lammers *et al.* (2008a) não observaram qualquer efeito sobre o consumo diário de ração ou na produção de ovos, peso dos ovos e massa dos ovos produzidos. Dozier, *et al.* (2008) afirmaram que o glicerol bruto é utilizado eficientemente por frangos de corte. Cerrate *et al.* (2006) avaliaram a inclusão de 0; 2,5 e 5% de glicerol bruto, em rações de frangos de corte e não observaram diferenças no desempenho dos animais.

Avaliando a inclusão de 5 e 10% de glicerol bruto nas dietas, Lammers *et al.* (2007) não observaram qualquer efeito no desempenho de leitões na fase de creche. Berenchtein (2010) evidenciou que o glicerol bruto pode ser utilizado como ingrediente energético das rações de suínos em crescimento e terminação até o nível de 9%, sem afetar sensivelmente o desempenho, as características de carcaça e a qualidade da carne dos animais. Já Groesbeck *et al.* (2008), avaliando os efeitos da inclusão de 3%, 6% e 12% de glicerol bruto associado com óleo de soja sobre o desempenho de leitões na fase de creche, observaram um efeito linear positivo no ganho diário de peso dos leitões que receberam glicerol bruto nas dietas e sem afetar o consumo diário de ração e a conversão alimentar.

Contudo, há trabalhos que não corroboram com os efeitos positivos do glicerol bruto até então citados. Em pesquisas avaliando a inclusão de 5 e 10% de glicerol bruto, em rações para frangos de corte Cerrate *et al.* (2006) relataram que o nível de 10% afetou negativamente o consumo de ração, o peso final e conseqüentemente a conversão alimentar dos frangos, diferente do que observado no presente estudo. Schieck *et al.* (2010) avaliando a inclusão de 8% de glicerol bruto nas dietas para suínos em crescimento e terminação, observaram uma diminuição de 2% da eficiência no ganho de peso, quando comparado com o desempenho em dieta à base de soja mais milho.

O glicerol é um alimento alternativo que vem sendo estudado em substituição a alimentos convencionais de alto custo, porém o uso de rações nutricionalmente balanceadas se faz necessário para obter melhores respostas de conversão alimentar, ganho de peso e diminuição do impacto ambiental das águas. O glicerol pode servir como uma boa fonte energética, prontamente disponível, aproveitando-se de um resíduo que pode ser um potencial poluidor já que o glicerol bruto em muitos casos é descartado no meio ambiente.

Alguns pontos de críticos quanto ao glicerol bruto é que entre os metais que podem ser encontrados em sua composição, destacam-se o chumbo, molibdênio e o alumínio, podem também ocorrer a presença de ácidos graxos, dentre eles os essenciais linolêicos e linolênicos, porém a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) por meio da resolução 386/1999, classifica o glicerol bruto como produto umectante na lista de aditivos permitidos para a alimentação humana e animal, contudo, sem critérios com relação à conformidade e a qualidade do produto.

O glicerol bruto, derivado da produção do biodiesel, apresenta-se como uma potencial fonte de energia para a tilápia do Nilo, entretanto, se faz necessário mais estudos da inclusão deste ingrediente em substituição de outras fontes de energia convencionais, avaliando seu

efeito sobre o desempenho zootécnico, sobrevivência, parâmetros histológicos e suas características químicas de carcaça nas fases subseqüentes de criação.

5.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DOS PEIXE

A maior deposição de proteína na carcaça de alevinos de tilápia do Nilo alimentados com níveis crescentes de glicerol em substituição ao milho, e a menor deposição de lipídios com a substituição do milho pelo glicerol bruto observados no presente estudo confirma os efeitos já citados do glicerol sobre o metabolismo energético, acelerando a utilização de carboidratos e lipídios como fonte de energia, e economizando a proteína dietética, a qual pode se depositar nos tecidos corporais dos peixes.

Os valores médios de proteína bruta no presente trabalho foram de 13,59%, inferiores ao observado por Neu *et al.* (2012) que obtiveram valores médios para proteína bruta de 16,69% em estudos com juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com níveis crescentes de substituição do milho pelo glicerol nas dietas. Também foram verificados valores superiores ao do presente estudo para proteína bruta por Shiau (1997) em híbridos de tilápias (*Oreochromis niloticus*) e (*Oreochromis aureus*), que obtiveram uma média de 16,11% de proteína e por Giamas *et al.* (1985), em *Anchoviella lepidentostole* que obtiveram 17,73% de proteína bruta.

Diferente do que foi observado no presente experimento, onde os valores de proteína bruta diferiram entre si ($P < 0,05$), Neu *et al.* (2012) na avaliação corporal de juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com glicerol bruto em substituição ao milho não verificaram diferenças estatísticas ($P > 0,05$) nesse parâmetro, o mesmo foi observado por Li, *et al.* (2010) na avaliação do teor de proteína bruta no filé de "catfish", também alimentados com níveis crescentes de glicerol em substituição ao milho da dietas.

A média do extrato etéreo dos alevinos de tilápia do Nilo da presente pesquisa foi de 1,169% diferindo entre os tratamentos ($P < 0,05$), valor inferior ao encontrado por Luzia *et al.* (2003) no músculo de tilápias, (*Oreochromis, spp*) na fase de crescimento (1,6%).

Os resultados encontrados no presente trabalho corroboram com os resultados de Li *et al.* (2010) que verificaram diferenças estatísticas ($P < 0,05$) no teor de extrato etéreo no filé de "catfish", alimentados com níveis crescentes de glicerol em substituição ao milho (0, 17, 37, 56, 75%). Outro resultado semelhante foi observado por Neu *et al.* (2012) em estudos com

juvenis de tilápia recebendo níveis crescentes de glicerol bruto na dieta (0, 9, 18, 27, 36%) na determinação do extrato etéreo corporal.

Li *et al.* (2010) após avaliações, sugerem que o decréscimo no teor de extrato etéreo no filé pode ser explicado pela deficiência do "catfish" em metabolizar o glicerol bruto para lipídio. Foi concluído que o "catfish" pode utilizar cerca de 10% de glicerol bruto na dieta sem que os peixes apresentem efeitos adversos sobre os parâmetros avaliados, entretanto, como o próprio autor destaca não balanceou as rações com valores de energia digestível dos alimentos.

Apesar de a umidade ter dado diferença entre os tratamentos ($P < 0,05$) com a substituição do milho pelo crescente nível glicerol bruto nas rações de alevinos de tilápias do Nilo, os resultados estão dentro da faixa observada por Ogawa (1999), onde o pescado contém de 60 a 85% de umidade. Li *et al.* (2010) observou um aumento no teor da umidade do filé, que se assemelha ao do presente trabalho, quando se aumentava o nível de glicerol na dieta. Entretanto, Neu *et al.* (2012), para juvenis de tilapia do Nilo não verificou alteração da umidade nos diferentes níveis crescentes de glicerol nas dietas.

A matéria mineral determinada no presente trabalho para os alevinos diferiu estatisticamente ($P < 0,05$) e obteve média de 2,69%, inferior ao encontrado por Neu *et al.* (2012) para juvenis de tilápia do Nilo (4,94%), resultado esse, certamente maior pelo tamanho e peso superior dos peixes estudados. Li *et al.* (2010) e Neu *et al.* (2012) não encontraram diferenças na matéria mineral com a substituição do milho por níveis crescentes de glicerol para "catfish" e tilápias, respectivamente, esses resultados não corroboram com o do presente estudo.

O fato das análises de carcaça terem sido realizadas utilizando o peixe inteiro, o teor de matéria mineral pode ter sido influenciado pela cabeça, pele, vísceras e os ossos, aumentando os níveis de matéria mineral da composição corporal, quando comparadas com os resultados obtidos por Simões *et al.* (2007) em análises de tilápia do Nilo na fase de engorda, que tiveram um teor de matéria mineral do filé abaixo dos resultados do presente estudo.

Menton *et al.* (1986), testando glicerol como fonte de energia em rações para truta arco-íris, verificaram que pode ser incluídos níveis de até 12% em substituição ao farelo de trigo em dietas de baixo nível energético, não afetando a composição da carcaça. Esses dados vêm de encontro com o presente trabalho, onde pode se observar diferenças estatísticas ($P < 0,05$) em todos os parâmetros da composição química da carcaça dos alevinos de tilápia do Nilo, fato esse que talvez possa ser evidenciado pelo tamanho dos animais avaliados.

Em uma revisão a respeito de uso de glicerina na dieta de não ruminante, Kerr *et al.* (2011) relataram que a maioria dos trabalhos não verificou alteração na qualidade da carcaça quando o glicerol é adicionado à dieta em níveis de até 10%. No presente trabalho com os níveis crescentes de substituição do milho por glicerol bruto nas dietas houve alterações na composição química da carcaça, diferente do que o autor comenta.

Através dos resultados da composição química corporal observada no presente trabalho se verificou que a fonte de energia provinda do glicerol bruto é bem utilizada pela tilápia do Nilo na fase de alevino, e com a ampla disponibilidade do glicerol no mercado, pode-se tornar um alimento alternativo na nutrição da espécie.

5.4 HISTOLOGIA DO HEPATOPÂNCREAS

Sabe-se que na composição do glicerol bruto existem algumas impurezas, dentre elas o metanol e alguns metais, que mesmo em quantidades diminutas, poderiam interferir no metabolismo dos peixes. Dentre os metais encontrados na composição do glicerol, destaca-se o chumbo, molibdênio e o alumínio, há também a presença de ácidos graxos, dentre eles os essenciais linoléicos e linolênicos. Contudo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) por meio da resolução 386/1999, classifica o glicerol como produto umectante na lista de aditivos permitidos para a alimentação humana e animal.

No presente estudo os compostos tóxicos presentes na composição do glicerol bruto não interferiram na área dos hepatócitos (Fig. 7). A hipertrofia ou atrofia dos hepatócitos reflete o estado funcional do fígado e é notavelmente diferente em estados hiper ou hipofuncionais. A hipertrofia celular ou nuclear indica a grande atividade da célula em decorrência da presença de algum composto químico ou ausência de alguma substância (Takashima & Hibiya, 1995) e pode resultar em necrose (Fanta *et al.*, 2003).

Os resultados deste estudo corroboram com a descrição da morfologia do fígado de teleósteos descrita por Takashima e Hibiya (1995) e para a tilápia do Nilo segundo Vicentini *et al.*, (2005). Como não houve diferenças significativas nas análises morfométricas das áreas dos hepatócitos, isso sugere preservação dessas estruturas, independentemente da inclusão dos diferentes níveis de glicerol na ração das tilápias do Nilo.

O fígado é um órgão central, com inúmeras funções vitais do metabolismo básico dos vertebrados (Arias *et al.* 1998); Os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da

toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (Zelikoff, 1998). Pode-se dizer então que o hepatopâncreas das tilápias alimentadas com os diferentes níveis de glicerol bruto nas dietas não foi afetado pela presença de outras substâncias, que podiam apresentar características de toxicidade contidas na composição do glicerol.

6. CONCLUSÃO

O glicerol bruto pode substituir todo o milho em rações peletizadas para a tilápia do Nilo durante a fase de alevino.

7. REFERÊNCIAS

- Abdalla, A.L., Silva Filho, J.C., Godoi, A.R., Carmo, C.A. & Paula Eduardo, J.L. (2008) Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **37**, 260-268.
- Albanez, J.R. & Matos, A.T. (2007) Aquicultura. In: Macedo, J.A.B. *Águas & águas*. **3**, 1097-1146.
- Anvisa (Agência de vigilância sanitária) - Resolução nº 386 de 5 de Agosto de 1999. *Regulamento técnico sobre aditivos utilizados Segundo as boas práticas de fabricação e suas funções*. Disponível em: www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivos_alimentares.htm. Acesso em 10 de fevereiro de 2014.
- Arias, I.M., Jakoby, W.B., Popper, H., Schachter, D. & Schafritz, D.A. (1998) eds The liver: *Biology and pathobiology*. Raven Press, pp. 3-10.
- Baumgarten, M.G.Z. (1996) Manual de análises em oceanografia química. Rio Grande: Ed. Furg, p.132.
- Berenchtein, B., Costa, L.B., Braz, D.B., Almeida, V.V., Tse, M.L.P. & Miyada, V.S. (2010) Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **39**(7), 1491-1496.
- Bernal, J., Dios, G.F.J., Viana, C.M., Avila, G.E. & Shimada, A.S. (1978) Efecto de La inclusión de glycerol o aceite vegetal a dietas com melaza para suínos e aves em crecimiento. *Veterinaria Mexicana*, **3**, 91-94.

Boscolo, W.R., Signor, A.A, Coldebella, A., Bueno, G.W. & Feiden, A. (2010) Rações orgânicas suplementadas com farinha de resíduos de peixe para juvenis da tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **41**(4), 686-692.

Boscolo, W.R., Hayashi, C., Meurer, F. Feiden, A. & Bombardelli, R.A. (2002) Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **31**(2), 539-545.

Boscolo, W. R., Hayashi, C., Soares, C. M., Furuya, W. M. & Meurer, F. (2001) Desempenho e Características de Carcaça de Machos Revertidos de Tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*), Linhagens Tailandesa e Comum, nas Fases Inicial e de Crescimento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **30**(5), 1391 - 1396.

Bruslé, J. & Anadon, G.G. (1996) The structure and function of fish liver. In: Munshi, J. S.D. & Dutta, H.M. Editora Fish Morphology horizon of new research. *Science Publishers Inc*, pp. 77-93.

Cerrate, S., Yan, F., Wang, Z., Coto, C., Sacakli, P. & Waldroup, P.W. (2006) Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. *International Journal of Poultry Science*, **5**(11), 1001-1007.

Chambers, W.H. & Deuel, H.J. (1925) The metabolism of glycerol in phlorhizin diabetes, *Journal of Biological Chemistry*, **65**, 21-29.

Costa, O.T.F., Costa, O.T.F., Ferreira, D.J.S., Mendonça, F.P. & Fernandes, M.N. (2002) Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossomamacropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite. *Aquaculture*, **232**, 627-636.

Costa, R., (2008) Glicerina: o tamanho do problema. *Biodiesel BR*, **1**(3), 16-20.

Donkin, Shawn S. (2008) Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, **37**, 280-286.

Dozier, W.A., Kerr, B.J., Corzo, M.T., Kidd, T.E., Weber, K. & Bregendahl, K. (2008) Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. *Poultry Science*, **87**, 317-322.

El-Sayed, A. M. (2006) *Tilapia Culture*. London: Cabi. pp. 277.

EPA (United States Environmental Protection Agency). (1999) Update of Ambient Water Quality Criteria for Ammonia. EPA-822-R-99-014.

Fanta, E., Rios, F. S., Romão, S., Vianna, A. C. C. & FREIBERGER, S. (2003) Histopathology of the fish *Corydoras paleatus* contaminated with sublethal levels of organophosphorus in water and food. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **54**, 119-130.

Furuya, W.M. (2007) Redução do impacto ambiental por meio da ração. In: *III Seminário de Aqüicultura, Maricultura e Pesca*. Belo Horizonte.

Giamas, M.T.D., Vermulm, J.H. & Sadowski, V. (1985) Estimativa do comprimento médio da maturação sexual da "manjuba" *Anchoviella lepidentostole* (Fowler, 1911) (*Osteichthyes, Engraulidae*), em Registro (SP). *Boletim do Instituto de Pesca*, **12**(3), 39-45.

Groesbeck, C.N., McKinney, L.J., Derouchey, J.M., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Dritz, S.S., Nelssen, J.L., Duttlinger, A.W., Fahrenholz, A.C. & Behnke, K.C. (2008) Effect of crude glycerol on pellet mill production and nursery pig growth performance. *Journal of Animal Science*, **85**(1), 201-202.

Hanson, L. & Grizzle, J. (1985) Nitrite-induced predisposition of channel catfish to bacterial diseases. *Fish Culture*, **47**, 98-101.

Hoar, W.S. & Randall, D.J. (1971) *Fisch Physiology*. Academic Press, pp. 457.

Karasu-Benli, A.C. & Köksal, G. (2005) The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) larvae and fingerlings. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **29**, 339-344.

Kerr, B.J., Shurson, G. C., Johnston, L.J., Dozier, III, & William A. (2011) Utilization of Crude Glycerin in Nonruminants. Shanghai: *Biodiesel- Quality, Emissions and By-Products*, pp, 380

Kijora, C., Bergner, H., Kupsch, R.D., Hagemann, L. (1995) Glycerol as a feed component in fattening pigs. *Archives of Animal Nutrition*, **47**(40), 345-360.

Knudsen, P.K. & Jensen, F.B. (1997) Recovery from nitrite-induced methemoglobinemia and potassium balance disturbances in carp. *Fish Physiology Biochem*, **16**, 1-10.

Koroleff, F. (1976) Determination of nutrients. In: Grasshoff, K. *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie Weinheim, pp. 117-181.

Lammers, P., Honeyman, M., Kerr, B.J., Weber, T. (2007) Growth and performance of nursery pigs fed crude glycerol. Ames: Iowa State University Animal Industry Report, acesso em 2 de julho de 2014, disponível em: <<http://www.ans.iastate.edu/report/air/2007pdf/R2224>>

Lammers, P., Kerr, B.J., Honeyman, M.S., Stalder, K. Dozier, W.A., Weber, T.E., Kiss, M.T. & Bregendahl, K. (2008a) Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. *Journal of Animal Science*, Champaign, **87**(1), 104-107.

Lammers, P., Kerr, B.J., Weber, T.E., Dozier, W.A., Kiss, M.T., Bregendahl, K. & Honeyman, M.S. (2008b) Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for growing pigs. *Journal of Animal Science*, Champaign, **86**, 602-608.

Lehninger, A.L. & Nelson, K.Y. (2006) *Princípios de Bioquímica*. 4ª ed. São Paulo: Sarvier.

Li, M.H., Minchew, C.D., Oberle, D.F. & Robinson, E.H. (2010) Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for channel catfish *Ictalurus punctatus*; *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge., **41**(1), 130-136.

Lin, E.C.C. (1977) Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry*, **46**, 765-795.

Lin, M.H., Romsos, D.R. & Leveille, G.A. (1976) Effect of glycerol on lipogenic enzyme activities and on fatty acid synthesis in the rat and chicken. *Journal of Nutrition*, **106**, 1668-1677.

Lopes, J.M., Silva, L.V.F. & Baldissierotto, B. (2001) Survival and growth of silver catfish larvae exposed to different water pH. *Aquaculture International*, **9**, 73-80.

Luzia, L.A.; Sampaio, G.R.; Castellucci, C.M.N.; Torres, E.A.F.S. (2003) The influence of season on the lipid profiles of five commercially important species of Brazilian fish. *Food Chemistry*. **83**, 93-97.

Macêdo, J.A.B. (2003) *Métodos Laboratoriais de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas* – ed. 2. Belo Horizonte: CRQ-M.G. pp. 450.

Menton, D.J., Slinger, S.J. & Hilton, J.W. (1986) Utilization of free glycerol as a source of dietary energy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, **56**, 215-227.

Meurer, F., Costa, M.M., Barros, D.A.D., Oliveira, S.T.L. & Paixao, P.S. (2009) Brown propolis extract in feed as a growth promoter of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758) fingerlings. *Aquaculture Research*, **40**, 603-608.

Meurer, F., Franzen, A., Piovesan, P., Rossato, K.A. & SANTOS, L.D. dos. (2012) Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research*, **43**, 1734-1737.

Neu, D.H., Furuya, W.M., Boscolo, W.R., Potrich, F.R., Lui, T.A. & Freiden, A. (2012) Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, **19**, 211-217.

Neu, D.H., Furuya, W.M., Yamashiro, D., Bittencourt, F., Moro, E.B., Fernandes, D.R.A., Boscolo, W.R. & Feiden, A. (2012) Glicerol na dieta de alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Agrarian*, Dourados, **5**, 288-294.

Ogawa, M. & Maia, E.L. (1999) Manual de Pesca. *Ciência e Tecnologia do Pescado*. São Paulo, ed Varela, **1**, 453.

Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuja, W.M. & Pezzato, A.C. (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **31**, 1595-1604.

Proença, C.E.M., Bittencourt, P.R.L. (1994) *Manual de Piscicultura Tropical*. Brasília: IBAMA. ed Imprensa Nacional, pp.196.

Schieck, S.J., Shurson, G.C., Kerr, B.J. & Johnston, L.J. (2010) Evaluation of glycerol, a biodiesel coproduct, in grow-finish pig diets to support growth and pork quality. *Journal of Animal Science*, **88**, 3927-3935.

Shiau, S.Y. (1997) Utilization of carbohydrates in warmwater fish - with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, 151, 79-96.

Schröder, A. & Südekum, K.H. (2007) Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets of ruminants. Kiel: *University of Kiel*, Available at: <<http://regional.org.au/au/gcirc/1/241>>.

Silva, D.J. & Queiroz, A.C. (2002) Análise de alimentos, *Métodos químicos e biológicos*. ed 3. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, pp. 235.

Simon, A., Bergner, H. & Schwabe, M. (1996) Glycerol as a feedingredient for broilerchickens. *Archives of Animal Nutrition*, **49**(2), 103-112.

Simoões, M.R., Ribeiro, C.F.A., Ribeiro, S.C.A., Park, K.J. & Murr, F.E.X. (2007) Composição físico-química, microbiológica e rendimento do filé de tilápia tailandesa (*Oreochromis niloticus*). *Ciência e Tecnologia de Alimentos*. **27**, 608–613.

Sipaúba-Tabares, L.H. (1994) Limnologia aplicada à aqüicultura. Jaboticabal: FUNEP,. 70p. Source for poultry. *Int. Journal Poultry Science*., **9**, 1-4.

Takashima, F. & Hibiya, T. (1995) Normal and pathological features. *An atlas of fish histology*, **2**, pp.195.

Taylors, P.W.; Roberts, S.D. (1999) Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. *North American Journal of Aquaculture*, **61**, 150-155.

Tomasso, J.R. (1994) Toxicity of nitrogenous wastes to aquaculture animals. *Reviews in Fisheries Science*, **2**(4), 291-314.

UFV - Universidade Federal de Viçosa. (2000) SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. *Versão 8.0*. Viçosa, MG.

Urbinati, E.C, & Carneiro P.C.F. (2004). Práticas de manejo e estresse dos peixes em piscicultura. *Tópicos Especiais em Piscicultura de Água Doce Tropical Intensiva*. Sociedade Brasileira de Aqüicultura e Biologia Aquática (Aquabio), pp. 171-193

Vargas, R.J. Souza, S.M.G., Tognon, F.C., Gomes, M.E.C. & Kessler, A.M. (2007) Desempenho de alevinos de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), alimentados com dietas contendo diferentes fontes de lipídios. *Revista Brasileira de Agrociências*, Pelotas, **13**(3), 377-381.

- Vicentini, C.A., Franceschini-Vicentini, I.B., Bombonato, M.T.S., Bertolucci, B., Lima, S.G. & Santos, A.S. (2005) Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Morphology*, **23**, 211-216.
- Vidal, L.V.O., Albinati, R.C.B., Albinati, A.C.L., Lira, A.D. de., Almeida, T.R. & Santos, G.B. (2008) Eugenol como anestésico para a tilápia-do-nilo. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, **43**, 1069-1074.
- Wagner, H. (1994) Glycerol in animal feeding - a byproduct of alternative fuel production. *Muhle Mischfuttertechnik*, **131**, 621-622.
- Wurts, W. A. & Masser, M. P. (2004) Liming ponds for aquaculture. *SRAC Publications*, **4100**, 1-5.
- Zelikoff, J.T. (1998) Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? *Toxicology*, **129**(1), 63-71.

II - Inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda

Elaborado e formatado conforme as normas para publicação científica, a ser submetida no periódico *Aquaculture Nutrition*. Disponível em: [http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/\(ISSN\)1365-2095](http://onlinelibrary.wiley.com/journal/10.1111/(ISSN)1365-2095)

Inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas de tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda

A. MOESCH¹, I.V. ZADINELO¹; F. MEURER², L. D. dos SANTOS²

¹ M.Sc (a) em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável – Universidade Federal do Paraná (UFPR), Rua Pioneiro, 2153, Jardim Dallas, CEP 85950-000, Palotina, Paraná, Brasil. augusto_moesch@hotmail.com; izabelzadinele@gmail.com, +55 44 99992776

² Professor (a) do Programa de Pós-graduação em Aquicultura e Desenvolvimento Sustentável (PGADS); Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos e Qualidade de Água, Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, UFPR – Setor Palotina, Palotina, Paraná, Brasil; liliandena@gmail.com; fabio_meurer@yahoo.com.br

1. Resumo: O objetivo do presente estudo foi à determinação do melhor nível de substituição do milho por glicerol bruto como fonte de energia para tilápia do Nilo na fase de crescimento/engorda em rações peletizada, avaliando o desempenho zootécnico, composição química corporal, glicose sanguínea e a morfologia do hepatopâncreas e do intestino. Utilizou-se 200 tilápias do Nilo (189,98g \pm 4,5g) distribuídas em 20 tanques de 1.000 L em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos (0, 6, 12, 18 e 24%) e quatro repetições, durante 49 dias. Houve uma variação nos parâmetros hematológicos ($P < 0,05$) com um pico de glicose sanguínea no tratamento com 0% de glicerol, no tempo de coleta (1h30min), enquanto que nos tratamentos com 18% e 24% de glicerol esse pico não foi observado ($P > 0,05$). Não houve diferenças ($P > 0,05$) nas medidas morfométricas da altura das vilosidades intestinais e área de hepatócito. Em relação aos parâmetros zootécnicos, os tratamentos com a inclusão de glicerol obtiveram menores índices de gordura visceral ($P < 0,05$) quando comparadas com o tratamento controle. Também foram observadas diferenças ($P < 0,05$) na composição química do filé, tanto na umidade como extrato etéreo, embora nada que comprometesse os bons resultados do glicerol bruto na ração, comprovando ser uma boa fonte alternativa na nutrição de peixes.

1.1 Palavras chaves: aquicultura, subproduto do biodiesel, linhagem Gift, nutrição de peixes, *Oreochromis niloticus*, parâmetros sanguíneos

Inclusion of crude glycerol replacing corn in diets of Nile tilapia in growing / fattening

1.2 Abstract: The aim of this study was to determine the best replacement of corn by crude glycerol as an energy source for Nile tilapia in the growth phase / fattening pelleted rations, assessing the growth performance, body composition, blood glucose and morphology the hepatopancreas and intestine. We used 200 Nile tilapia ($189.98 \text{ g} \pm 4.5 \text{ g}$) distributed in 20 tanks of 1,000 L in a completely randomized design with five treatments (0, 6, 12, 18 and 24%) and four replicates for 49 days . There was a variation in hematological parameters ($P < 0.05$) with peak blood glucose treatment with 0% glycerol, at the time of collection (1h30min), while the treatments with 18% and 24% glycerol that no peak was observed ($P > 0.05$). There were no differences ($P > 0.05$) in the morphometric measurements of the height of the intestinal villi and hepatocyte area. Concerning the zootechnical parameters, treatments with the addition of glycerol had lower levels of visceral fat ($P < 0.05$) when compared with the control. Differences ($P < 0.05$) were also observed in the chemical composition of the fillet, both in moisture and lipids, although nothing that would compromise the good results of the crude glycerol in the feed, proving to be a good alternative source in fish nutrition.

1.3 Keywords: aquaculture, blood parameters, byproduct of biodiesel, fish nutrition, Gift lineage, *Oreochromis niloticus*.

2. INTRODUÇÃO

A criação de tilápia do Nilo vem se tornando um dos principais segmentos da aquicultura no mundo. A rusticidade da espécie contribui para o sucesso da atividade, pois esta é bastante tolerante a condições adversas de qualidade de água, como baixos níveis de oxigênio dissolvido, baixas temperaturas e níveis relativamente altos de amônia e nitrito. Além disso, as características da carcaça permitem fácil filetagem, resultando na ausência de espinhos na carne, a qual tem consistência firme, sabor suave e ótima aceitação no mercado (Souza, 2002).

Os custos com rações são superiores a 50% do total da produção (El-Sayed, 2006). Portanto, há a necessidade da pesquisa de alimentos alternativos para melhorar a relação de custo do alimento nesta cadeia. A utilização desses alimentos em substituição a ingredientes convencionais da ração permitem redução desses custos. Dessa forma, há uma importância nos estudos de alimentos alternativos, para que estes ganhem espaço nas fábricas de rações, possibilitando rações menos onerosas e de qualidade nutricional similar à aquelas formuladas com alimentos convencionais, e que proporcionem desempenhos produtivos semelhantes.

Atualmente, vários alimentos, como subprodutos, estão sendo testados na alimentação animal, um deles é o glicerol bruto derivado da fabricação do biodiesel. Um grande resíduo é

que o excesso de glicerol bruto produzido, altamente poluidor, possa ser descartado de maneira irresponsável no meio ambiente (Costa, 2008), e essa é uma preocupação que faz com que o subproduto seja cada vez mais estudado para a utilização na indústria alimentícia.

Embora pouco conhecido na alimentação animal o glicerol bruto vem sendo estudado há várias décadas (Bernal *et al.* 1978; Chambers & Deuel, 1925; Lin, 1976 & 1977; Menton, *et al.* 1986; Simon *et al.* 1996). O novo interesse no uso desse subproduto em rações vem sendo impulsionado pelo recente estímulo à produção de biodiesel e a conseqüente disponibilidade do glicerol bruto. Em estudos já mais recente vários pesquisadores utilizaram o glicerol como alimento alternativo nas dietas, para suínos (Kijora, *et al.* 1995; Groesbeck, *et al.* 2008; Berenchtein, 2010; Lammers, *et al.* 2008b), ruminantes (Schröder & Südekum 2007; Abdalla, 2008; Donkin, 2008), aves (Cerrate, *et al.* 2006; Lammers, *et al.* 2008a) e peixes (Li, *et al.* 2010; Neu *et al.* 2012)

O glicerol pode desempenhar um papel fundamental no metabolismo, sendo um componente estrutural importante de triglicerídeos e fosfolípidios, fornecendo energia nas vias glicolíticas e ácidos carboxílicos (Lin, 1977). Possui papel osmorregulador, ou seja, tem como finalidade restabelecer e manter o volume normal de pressão, e a atividade das células.

Desta maneira o estudo do glicerol na alimentação da tilápia do Nilo pode se tornar importante, proporcionando um aumento da sustentabilidade de duas cadeias produtivas; a do biodiesel, possibilitando mais um destino para o seu subproduto e a tilapicultura, pois esse pode se tornar um alimento alternativo na composição de rações, portanto, possibilitando o barateamento desta.

O objetivo do presente trabalho é determinar o melhor nível de substituição do milho por glicerol bruto como fonte de energia para tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus*) na fase de crescimento/engorda em rações peletizadas, avaliando seu desempenho zootécnico, composição química do filé, hematologia da glicose sanguínea e histologia do hepatopâncreas e intestino.

3. MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição de Organismos Aquáticos (LANOAq), do Curso Superior de Tecnologia em Aquicultura, juntamente com o

Laboratório de Bromatologia e Qualidade de Água de Organismos Aquáticos, Setor Palotina, na Universidade Federal do Paraná (UFPR).

O ensaio da inclusão do glicerol bruto derivado da fabricação de biodiesel em substituição do milho nas rações, durante a fase de crescimento, foi conduzido por um período de 49 dias. Foram utilizadas 200 tilápias-do-Nilo da linhagem GIFT, revertidas sexualmente na fase inicial, com o peso médio de $189,98\text{g} \pm 4,5\text{ g}$, distribuídas em 20 tanques circulares de fibra de vidro de 1.000 L de volume útil (Anexo 8), com 10 peixes em um delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições constituindo uma unidade experimental.

Além dos 20 tanques utilizados para estocagem dos peixes, a estrutura física era composta por mais sete tanques circulares em fibra de vidro de 1.000 L de volume útil, que serviam como biofiltros (Anexo 9). Dentre estes, o primeiro recebia água dos tratamentos e funcionava como caixa de decantação; os dois tanques seguintes realizavam a filtragem mecânica e biológica por meio de pedras britas, telas e areia; após, dois tanques na sequência realizavam filtragem química por meio de macrófitas; o penúltimo recebia a água tratada, e o último funcionada como caixa de captação que enviava a água tratada por meio de uma bomba de 1 HP, aos tanques experimentais. Os tanques de 1.000 L faziam parte de um sistema de recirculação de água, e a renovação diária foi na ordem de oito vezes o seu volume.

As variáveis físico-químicas da água dos tanques foram aferidas durante todo o período experimental, sendo que a temperatura e oxigênio dissolvido foram medidos diariamente pela manhã às 7h30min e à tarde às 16h30min. O pH da água de cada unidade experimental, saída da caixa de decantação e saída da caixa de captação, foram aferidos semanalmente pela manhã, ante da primeira alimentação. Foram avaliados semanalmente os parâmetros de alcalinidade, dureza, amônia e o nitrito.

A temperatura e oxigênio dissolvido foram obtidos por meio do medidor de oxigênio dissolvido LUTRON DO-5519. O pH foi determinado por meio de pHmetro de bancada digital (TECNOPON mPA 210). Alcalinidade total e dureza foram determinadas por titulação segundo Macêdo (2003).

A amônia foi determinada segundo Koroleff (1976), neste método a amônia reage com o fenol e hipoclorito de sódio em uma solução alcalina para formar uma solução de cor azul. A reação é catalisada pelo nitroprussiato de sódio. A absorbância resultante é proporcional à amônia presente e é medida espectrofotometricamente a 630 nm. Uma vez

formada, a cor azul de indofenol é estável por cerca de 30 horas desde que o frasco esteja vedado.

O nitrito foi determinado segundo Baumgarten (1996), no método para determinação do nitrito os procedimentos espectrofotométricos (530 nm) são baseados na reação de Griess, na qual o nitrito reage com a sulfanilamida em meio ácido. O diazo, composto formado reage com o cloridrato de N-(1-naftil) etilenodiamina (NED), gerando um composto de coloração vermelha intensa. A reação é controlada pelo tempo, e o produto deve ser determinado entre 10 minutos e 2 horas após a mistura dos reagentes.

Foram considerados tratamentos os cinco níveis de substituição do milho da ração pelo glicerol bruto (0, 21, 42, 63 e 100%), com base na energia digestível de ambos (correspondente à inclusão de 0, 6, 12, 18 e 24% de glicerol na ração). As rações foram fornecidas *ad libitum* três vezes ao dia, às 7h00mim, 12h00mim e 17h00mim, até a saciedade aparente dos animais, para que não houvesse sobras. Os tanques eram sifonados duas vezes ao dia para retirada das fezes e possíveis sobras de ração (Anexo 10).

As cinco rações experimentais formuladas eram isoprotéicas, isoenergéticas, isofosfóricas e isoaminoacídicas para lisina e metionina+cistina (Meurer *et al.* 2007). Para a formulação das rações experimentais (Tabela 1), foram utilizados os valores de digestibilidade dos alimentos propostos por Boscolo *et al.* (2002) e Pezzato *et al.* (2002). O glicerol bruto utilizado nas dietas é derivado da fabricação do biodiesel, com energia digestível aparente para tilápia de Nilo de 3.126 kcal/kg (Meurer *et al.* 2012).

Tabela 1 Composição das dietas utilizadas no experimento na alimentação das tilápias do Nilo na fase de crescimento/engorda

Ingredientes (%)	Inclusão do milho pelo glicerol bruto nas dietas (%)				
	0%	6%	12%	18%	24%
Farelo de soja	61,57	62,89	64,20	65,52	67,82
Milho	32,88	25,96	19,04	12,13	0,00
Fosfato bicalcico	3,01	3,06	3,11	3,15	3,15
Óleo de soja	1,39	0,98	0,57	0,16	1,26
Premix-app	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Sal comum	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Calcário	0,11	0,08	0,04	0,00	0,00
*BHT	1,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Glicerol bruto	0,00	6,00	12,00	18,00	24,00
Inerte	0,00	0,00	0,00	0,00	2,73
Nutrientes					
Ácido linoléico%	1,82	1,48	1,13	0,79	1,17
Amido%	28,79	24,66	20,53	16,40	9,15
Cálcio%	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00
Matéria mineral%	8,07	8,08	8,09	8,10	10,76
Energia digestível (kcal/kg)	3.000,00	3.000,00	3.000,00	3.000,00	3000,00
Energia Bruta (kcal/kg)	4.072,86	4.046,28	4.019,710	3.993,13	3944,87
Fibra bruta%	4,28	4,21	4,17	4,11	4,01
Fósforo total%	1,00	1,00	1,00	1,00	0,98
Lipídios%	4,21	3,54	2,87	2,20	2,82
Lisina total%	1,79	1,81	1,83	1,85	1,88
Matéria seca%	91,71	91,68	91,64	91,61	91,93
Metionina + cistina total%	0,90	0,89	0,88	0,87	0,86
Proteína bruta%	31,238	31,26	31,29	31,31	31,36
Proteína digestível%	28,00	28,00	28,00	28,00	28,00

¹ Complemento vitamínico e mineral níveis de garantia por quilograma do produto: vit. A - 1.200.000 UI; vit. D3 - 200.000 UI; vit. E - 12.000 mg; vit. K3 - 2.400 mg; vit. B1 - 4.800 mg; vit. B2 - 4.800 mg; vit. B6 - 4.000 mg; vit. B12 - 4.800 mg; ácido fólico - 1.200 mg; pantotenato de cálcio - 12.000mg; vit. C - 48.000 mg; biotina - 48 mg; colina - 65.000 mg; niacina - 24.000 mg; Fe - 10.000 mg; Cu - 6.000 mg; Mn - 4.000 mg; Zn - 6.000 mg; I - 20 mg; Co - 2 mg; Se - 20 mg. * BHT = Butil Hidroxi Tolueno

Para a fabricação das rações os alimentos foram moídos em um triturador tipo martelo em peneira de 0,7 mm (Anexo 11), posteriormente, misturados de acordo com a sua formulação e então processadas. A peletização foi feita em uma peletizadora experimental pelo umedecimento prévio da mistura com água à temperatura de 50 ± 2 °C. Após a peletização estas foram secas em uma estufa de ventilação forçada por 24h a 55 °C e posteriormente armazenada sob refrigeração para a sua utilização.

Ao final do experimento os animais foram mantidos em jejum por 24 h para o esvaziamento do trato gastrointestinal e após este período os peixes foram imersos em solução

de água com óleo de cravo (Taylors & Roberts, 1999) em concentrações de (80 á 100 mg L⁻¹), para posterior anestesiamento. As concentrações de 100 mg L⁻¹ de óleo de cravo são adequadas para anestesia voltada à biometria e breve manejo em tilápias do Nilo na fase de engorda (Simoes *et al.* 2010). Posteriormente ops peixes foram abatidos, (aprovado no comitê de ética, protocolo número 09/2012-CEUA, da Universidade Federal do Paraná) destes, metade foi utilizado para avaliar o desempenho zootécnico, sendo o restante utilizado para análise da composição química corporal e avaliação histológica do hepatopâncreas e intestino.

Foram efetuadas as medidas individuais do desempenho zootécnico: peso total (g), comprimento total (cm), comprimento padrão (cm), comprimento de cabeça (cm), altura (cm), largura (cm), taxa de crescimento específico (g·cm⁻¹), conversão alimentar (%), rendimento de carcaça com e sem cabeça (%), rendimento do filé (%) e índice hepatossomático (%). É considerado rendimento de tronco o peixe eviscerado, sem cabeça, sem pele e nadadeiras; rendimento de carcaça com cabeça é o peixe apenas eviscerado; rendimento de carcaça sem cabeça é o peixe eviscerado e sem cabeça e comprimento padrão é a medida que se se estende do começo da boca até o início da nadadeira caudal.

O ganho de peso diário dos peixes foi calculado pela seguinte equação:

$$GPD (g) = \frac{PF - PI}{\text{Número de dias}}$$

Em que: GPD = ganho em peso médio diário.

PF = peso final

PI = peso inicial

Para a determinação da taxa de crescimento específico, foi empregado a equação abaixo, utilizando-se transformações logarítmicas.

$$TCE = \frac{(\ln \text{ peso total final}) - (\ln \text{ peso total inicial})}{\text{tempo de experimento (dias)}} \times 100$$

Onde: TCE = Taxa de crescimento específico

O índice hepatossomático foi calculado pela seguinte equação:

$$IHS = \frac{\text{Peso Fígado ou Hepatopâncreas}}{\text{Peso Total}} \times 100$$

Onde: IHS = índice hepatossomático

A conversão alimentar foi calculada dividindo-se o consumo da ração pelo ganho de peso dos peixes, obtido no período.

$$C.A. = \frac{\text{Consumo de Ração}}{\text{Ganho de Peso dos Peixes}}$$

Em que: C.A. = conversão alimentar

Para determinação da composição química do filé, estes foram moídos em moedor de carne até se obter uma amostra homogênea. Posteriormente, foram avaliados quanto ao: extrato etéreo (%), proteína bruta (%), matéria mineral e (%) e matéria seca (%), dos peixes de cada unidade experimental, todas as amostras foram analisadas de acordo com a metodologia proposta por Silva e Queiroz (2002). As análises bromatológicas foram realizadas no Laboratório de Nutrição, Bromatologia e Qualidade de Água na Aquicultura da UFPR Setor Palotina.

Para avaliação histológica, foram coletados fragmentos do hepatopâncreas e do intestino (parte proximal) de três peixes de cada unidade experimental, fixados em formol 10%, por 12 horas e posteriormente conservados em álcool 70%. Foram então desidratados em série ascendente de álcool, diafanizadas em xilol, e incluídas em parafina, para a obtenção de cortes histológicos semiseriados.

Foi realizada a microtomia, obtendo-se cortes histológicos de 5µm com auxílio de navalha descartável em micrótomo automático (LEICA, RM-2155) e os cortes histológicos foram corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE). A fotodocumentação (captura de imagens) foi realizada no fotomicroscópio Zeiss Primo Star em objetiva de 40X, utilizando-se sistema de imagens computadorizado (Image Pro Plus – Versão 5.2-Media Cibernética). A morfometria do hepatopâncreas foi realizada em 20 hepatócitos por animal sendo, mensurado a área total do hepatócito e para a altura das vilosidades intestinais foram realizadas as medidas em 20 vilos por peixe.

Utilizou-se à hematologia no intuito de verificar a influência dos níveis de inclusão de glicerol bruto na ração sobre a concentração de glicose sanguínea, utilizando um anticoagulante (EDTA 10%). Capturados dos tanques com auxílio de redes, os peixes de cada unidade experimental foram imersos em solução de água com óleo de cravo (Taylors & Roberts, 1999) em concentrações menores, ($50 \pm 10 \text{ mg L}^{-1}$), obtendo-se apenas um prévio anestesiamento e a não mortalidade dos animais, já que a finalização do estudo se deu no dia seguinte.

O delineamento estatístico foi inteiramente casualizado, constituído por cinco tratamentos e três tempos de coleta. Foram retirados sangue de três peixes de cada unidade experimental, obtendo-se médias mais precisas. O sangue foi coletado nos tempos de 1h00min, 1h30min e 2h00min após a alimentação da manhã (07h00min) por meio de punção caudal, sendo retirado 1 mL de sangue/peixe com o auxílio de uma seringa descartável.

O sangue colhido foi armazenado sob refrigeração (4°C), evitando-se a hemólise. Para a avaliação bioquímica da glicose foi utilizado o plasma do sangue (Anexo 12) conservado com EDTA (10%) separado por centrifugação a 3000 RPM/5 minutos (Anexo 13). As análises foram realizadas utilizando o *kit* para glicose sanguínea Bioliquid[®] específicos, (Pinhais PR/BR), e a leitura foi realizada por espectrofotômetro automático DRAKE, modelo QUICK LAB II[®], (São Paulo SP/BR).

Os dados obtidos ao final para os parâmetros de desempenho zootécnico, composição química da carcaça e filé, área total do hepatócito, altura das vilosidades intestinais, sobrevivência e hematologia, foram submetidos à análise de variância em nível de 5% de probabilidade (ANOVA) e em caso de diferenças foi aplicado à análise de regressão e Teste de Tukey através do programa estatístico SAEG (UFV 2000). (Sistema de Análise Estatística e Genética)

4. RESULTADOS

4.1 QUALIDADE DE ÁGUA

Não houve diferenças ($P > 0,05$) nas variáveis físico-químicas da água. As médias entre todos os tratamentos foram: temperatura ($26,396 \pm 0,051^{\circ}\text{C}$), oxigênio dissolvido ($4,685 \pm$

0,152 mg L⁻¹), pH (7,312 ± 0,053), amônia (0,643 ± 0,031 mg L⁻¹), nitrito (0,067 ± 0,001 mg L⁻¹), dureza (50,520 ± 0,967 mg L⁻¹ CaCO₃) e alcalinidade (93,486 ± 2,782 mg L⁻¹ CaCO₃)

4.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

O desempenho zootécnico (Tabela 2) dos peixes alimentados com níveis crescentes de glicerol bruto em substituição ao milho, não diferiram entre si (p>0,05), exceto para o índice de gordura visceral (P<0,05), pode-se observar que no tratamento controle houve uma maior porcentagem de gordura visceral (2,520g), bem acima dos outros tratamentos, que variaram de 1,395g com 6% até 1,080g com 18% de inclusão, e não diferiram entre si (P>0,05), como pode ser observado na Figura 1.

Tabela 2 Desempenho zootécnico dos peixes alimentados com a inclusão do glicerol bruto em níveis crescentes de substituição do milho nas dietas

Variáveis	Dietas (% de inclusão de glicerol)					CV (%)
	0%	6%	12%	18%	24%	
Peso total (g) ^{ns}	357,43	353,71	354,48	347,98	366,3	1,884
Comprimento total (cm) ^{ns}	25,44	25,54	25,32	25,35	25,7	0,606
Comprimento padrão (cm) ^{ns}	20,64	20,5	20,58	20,42	20,95	0,985
Largura (cm) ^{ns}	3,69	3,7	3,69	3,7	3,75	0,677
Altura (cm) ^{ns}	8,62	8,83	8,72	8,74	8,82	0,975
Gordura visceral (%) ¹	2,52	1,39	1,37	1,08	1,29	35,050
Índice hepático (%) ^{ns}	1,44	1,37	1,48	1,31	1,56	6,759
Rendimento de filé (%) ^{ns}	36,89	37,49	37,71	37,47	38,01	1,096
Carcaça com cabeça (%) ^{ns}	87,05	89,21	89,21	89,17	89,02	1,063
Carcaça sem cabeça (%) ^{ns}	66,92	68,52	69,35	68,09	66,73	1,651
Rendimento de tronco (%) ^{ns}	48,71	49,82	49,16	47,86	48,65	1,475
*GPD(g/dia) ^{ns}	3,41	3,36	3,37	3,23	3,61	4,046
*TCE (%/dia) ^{ns}	1,28	1,27	1,28	1,23	1,35	3,373
Conversão alimentar ^{ns}	1,77	1,75	1,77	1,82	1,64	3,811
Sobrevivência (%) ^{ns}	95	95	95	95	95	

^{ns} Médias não significativas a 5% de probabilidade (ANOVA). CV (%): Coeficiente de variação, *GPD: Ganho de peso diário, *TCE: Taxa de crescimento específico. ¹ Efeito quadrático: $y = 0,004x^2 - 0,0160x + 2,430$; $R^2 = 0,920$.

Pode-se observar nos resultados de índice de gordura visceral, um efeito quadrático com a inclusão de glicerol em substituição ao milho, sendo determinado como o valor mínimo o nível de 16,45% de inclusão (Fig. 1), que representa uma substituição de 57,6% do milho, fato possivelmente relacionado com a diminuição dos depósitos de gordura.

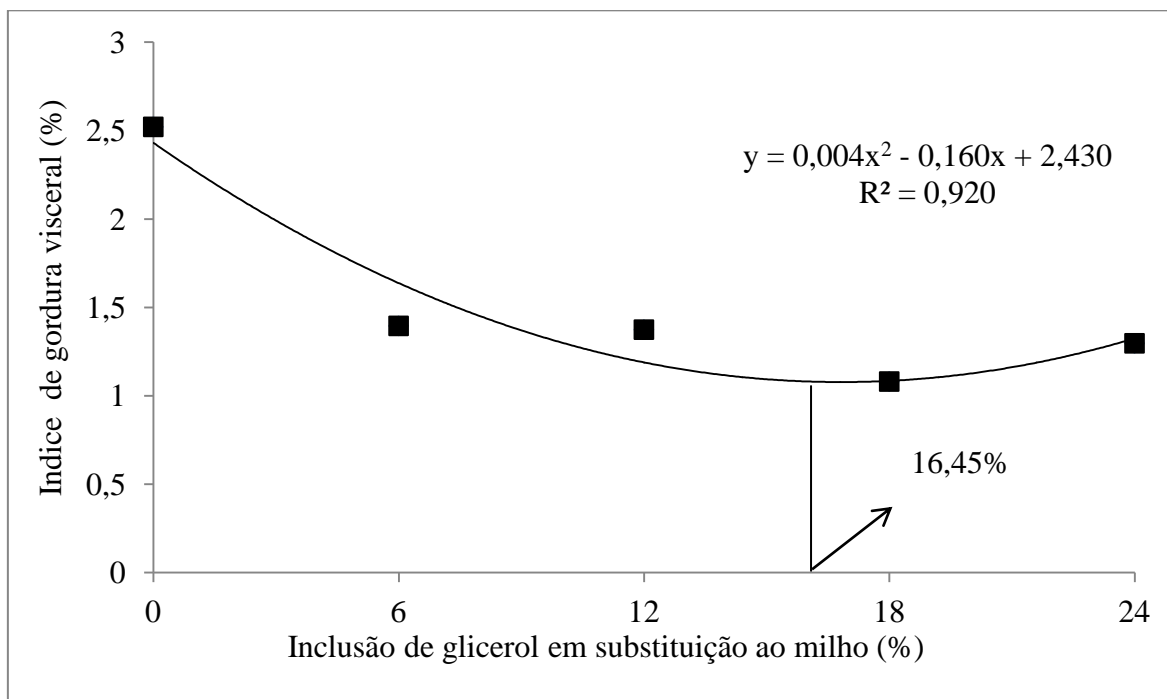


Figura 1 Índice de gordura visceral das tilápias do Nilo alimentadas com níveis crescentes de inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho na fase de crescimento/engorda.

Não foi verificada diferença significativa ($P>0,05$) no peso final e os resultados variaram de 347,98g (18% de inclusão) a 366,30g (24% de inclusão), consequentemente, o ganho de peso foi menor e maior nos mesmos tratamentos, porém o ganho de peso no tratamento controle foi 357,43, valor próximo aos demais tratamentos com a inclusão. A conversão alimentar aparente foi melhor no tratamento com 24% de inclusão, resultado que fez com que houvesse maior ganho de peso nesse tratamento, assim como a taxa de crescimento específico dos animais.

O rendimento de filé não diferiu entre os tratamentos ($P>0,05$), obtendo bons resultados, que variaram entre 36,89% a 38,01%, respectivamente no tratamento controle (0%) e 24% de inclusão do glicerol.

O índice hepatossomático não demonstrou interação ($P>0,05$) com os diferentes níveis de glicerol na dieta. Entretanto o maior valor observado está relacionado ao tratamento com adição de 24% do subproduto. Todavia, todos os resultados ficaram bem próximos em todos os tratamentos. A sobrevivência foi boa, obtendo média final de 95% em todos os tratamentos. O ganho de peso diário e a taxa de crescimento específico, não diferiram entre os tratamentos ($P>0,05$).

Não houve diferença ($P>0,05$) no comprimento total, variando em 25,32 cm (12%) e 25,7cm (24%), comprimento padrão 20,42cm (18%) à 20,95 cm (24%), largura 3,69 cm (0% e 12%) á 3,75 cm (24%), altura 8,62 cm (0%) à 8,83 cm (6%). Em todas variáveis o tratamento com 24% de inclusão do glicerol em substituição do milho na ração se mostrou melhor, exceto na altura, porém o resultado obtido (8,82 cm) foi praticamente semelhante ao já citado. Por fim, a porcentagem de carcaça com e sem cabeça também não mostraram diferenças ($P>0,05$), assim como o rendimento percentual do tronco.

4.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DO FILÉ

Na composição química do filé houve diferenças estatísticas em relação ao extrato etéreo e umidade ($P<0,05$), como pode ser observado na Tabela 3, entre os diferentes níveis de inclusão do glicerol em substituição ao milho nas dietas.

O extrato etéreo apresentou valores superiores e inferiores ($P<0,05$) quando dispostos 6% e 18% de inclusão, respectivamente. A umidade foi próxima em todos os tratamentos, porém apresentou diferenças estatísticas ($P<0,05$). A proteína bruta não diferiu entre os tratamentos, variando entre 21,17% e 21,66%, nos respectivos tratamentos (18% e 0% de inclusão), assim como a matéria mineral que também não apresentaram diferenças significativas ($P>0,05$) por entre as diferentes inclusões do glicerol em substituição do milho, variando entre 1,18% e 1,27%, nos respectivos tratamentos (18% e 0%).

Tabela 3 Composição química do filé dos peixes alimentados com a inclusão do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas

Parâmetros	Dietas (% de inclusão de glicerol)					CV (%)
	0%	6%	12%	18%	24%	
Extrato etéreo (%) ¹	1,59	1,76	1,06	0,98	1,44	24,650
Proteína bruta (%) ^{ns}	21,66	21,55	21,25	21,17	21,34	0,960
Umidade (%) ²	76,11	77,00	77,38	76,94	76,28	0,691
Matéria mineral (%) ^{ns}	1,27	1,25	1,27	1,18	1,25	2,986

^{ns} Médias não significativas a 5% de probabilidade (ANOVA). CV (%) Coeficiente de variação. ¹ Efeito quadrático: $y = 0,002x^2 - 0,083x + 1,697$; $R^2 = 0,725$; ² Efeito quadrático: $y = 0,007x^2 - 0,0192x + 76,12$; $R^2 = 0,981$.

O efeito quadrático observado entre os teores de extrato etéreo da composição centesimal entre os distintos tratamentos com inclusão de glicerol na dieta estão apresentados na Figura 2. A maior deposição de extrato etéreo, foi verificado no tratamento controle, e com

a inclusão do glicerol houve uma diminuição no acúmulo de gordura no filé das tilápias. Observou-se menores teores de extrato etéreo, com a inclusão de 14,39% de glicerol bruto nas dietas, representando 50,37% de substituição do milho pelo glicerol bruto nas dietas.

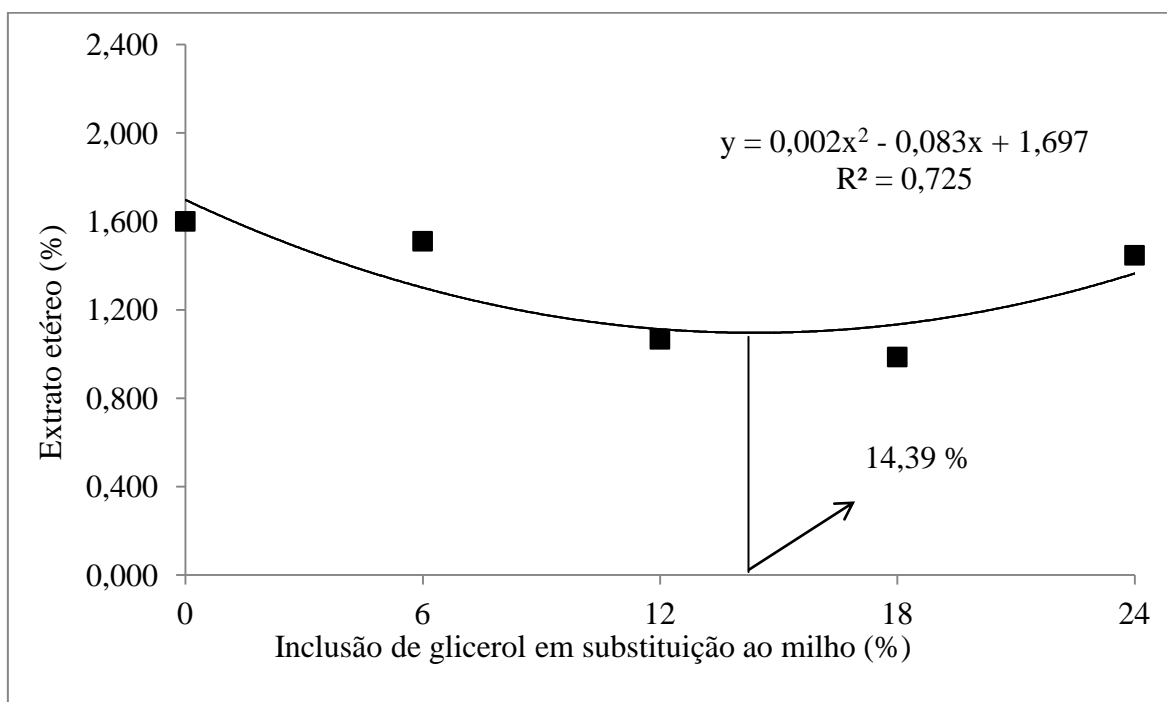


Figura 2 Extrato etéreo do filé das tilápias do Nilo alimentadas com inclusão de glicerol bruto em substituição do milho nas dietas.

Quanto à umidade, encontrou-se um comportamento quadrático entre os tratamentos (Fig. 3). Com inclusão de glicerol de 12,31%, representando 43,08% de substituição do milho pelo glicerol bruto nas dietas, alcançou os maiores teores de umidade.

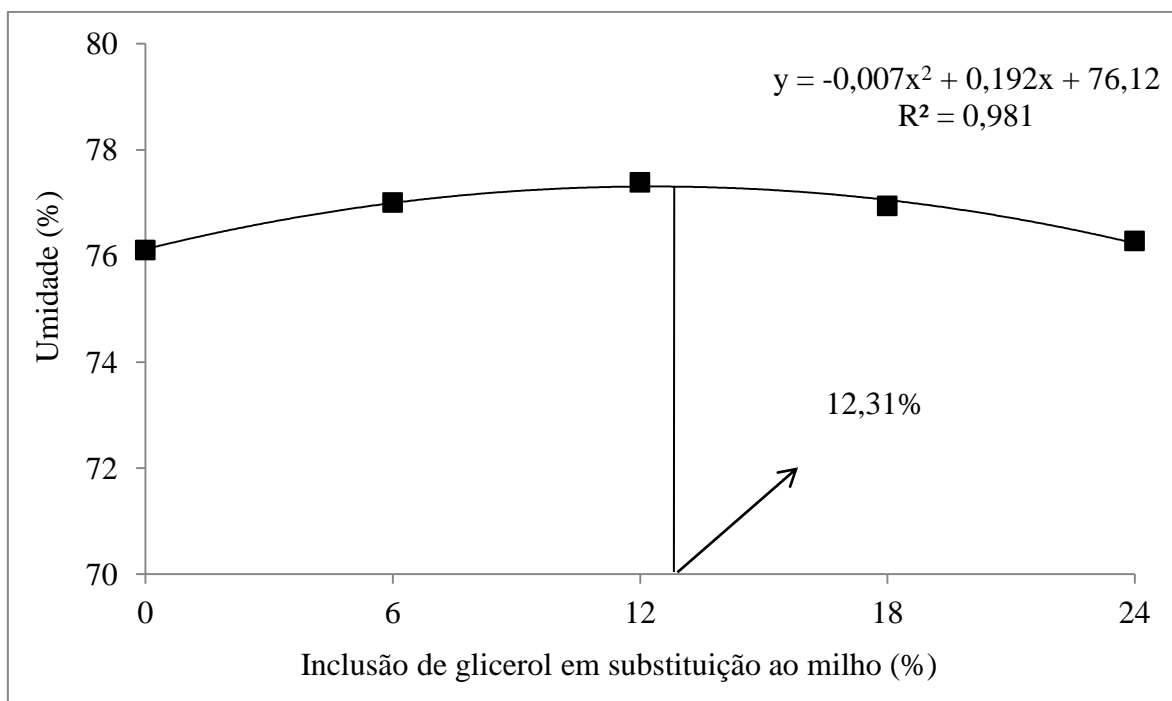


Figura 3 Umidade do filé das tilápias do Nilo alimentadas com inclusão do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas.

4.4 HISTOLOGIA

Não houve diferenças significativas ($P > 0,05$) nas análises morfométricas das alturas das vilosidades intestinais, nem nas áreas dos hepatócitos, dos peixes alimentados com diferentes níveis de inclusão de glicerol bruto nas dietas (Tabela 4).

Tabela 4 Parâmetros histológicos das áreas dos hepatócitos e altura das vilosidades intestinais dos peixes alimentados com a inclusão do glicerol bruto em substituição do milho nas dietas

Parâmetros	Dietas (% de inclusão de glicerol)					CV (%)
	0%	6%	12%	18%	24%	
Avi (μm) ^{ns}	599,5148	595,0026	565,8041	576,8061	578,0751	2,387
Áh (μm) ^{ns}	273,1406	250,1537	252,0020	254,1372	256,9665	3,584

^{ns} Médias não significativas a 5% de probabilidade (ANOVA). CV (%) Coeficiente de variação. Avi: Altura da vilosidade intestinal. Áh: Área dos hepatócitos.

A análise da morfologia das vilosidades intestinais do segmento proximal do intestino da tilápia do Nilo apresenta uma organização normal das suas tûnicas intestinais sendo compostas pelo epitélio da mucosa, tûnica submucosa, tûnica muscular e tûnica serosa (Fig. 4), mostrando que a inclusão do glicerol não afetou este tecido. A camada da mucosa apresentou epitélio simples colunar formado por enterócitos e células caliciformes (muco)

normais, já as vilosidades intestinais apresentaram aspecto foliáceo e irregularidades quanto a sua altura, não sendo observada a presença de criptas intestinais.

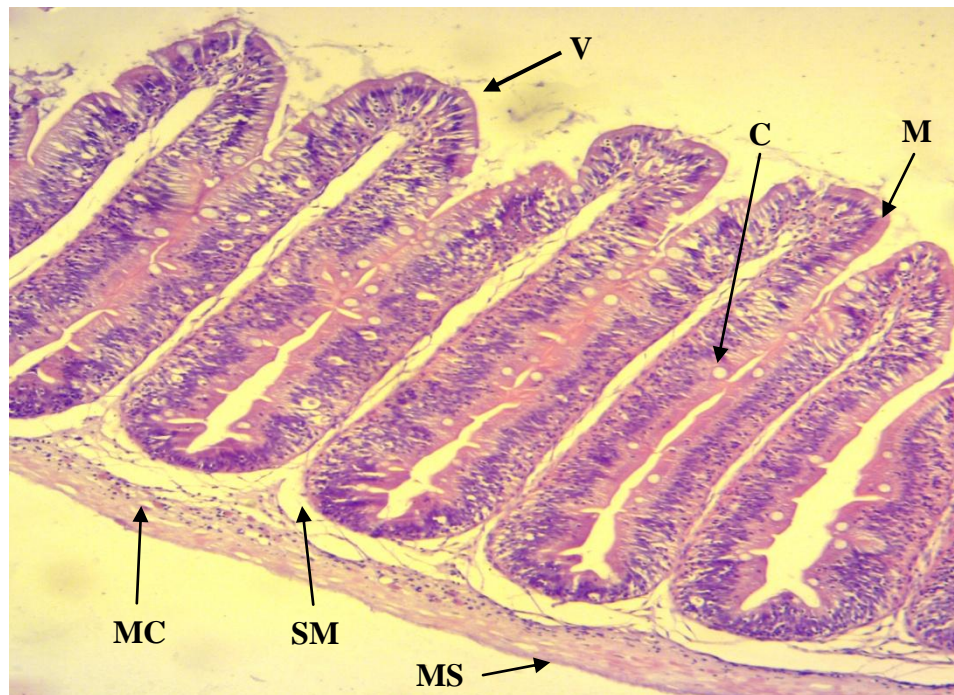


Figura 4 Fotomicrografia representativa do segmento médio do intestino de tilápia do Nilo com a inclusão de glicerol em substituição ao milho. Em destaque as vilosidades intestinais (V), epitélio da mucosa (M), túnica submucosa (SM), túnica muscular (MC), túnica serosa (MS), célula caliciforme (C). Coloração HE. Aumento de 10x.

Foram observado nas análises morfológicas dos hepatócitos que estes apresentaram formato arredondado e arranjado em organização ligeiramente cordonal, em torno dos capilares sinusóides (Fig. 5). Os hepatócitos estavam caracterizados pelo seu núcleo central com alta basofilia e citoplasma vacuolizado.

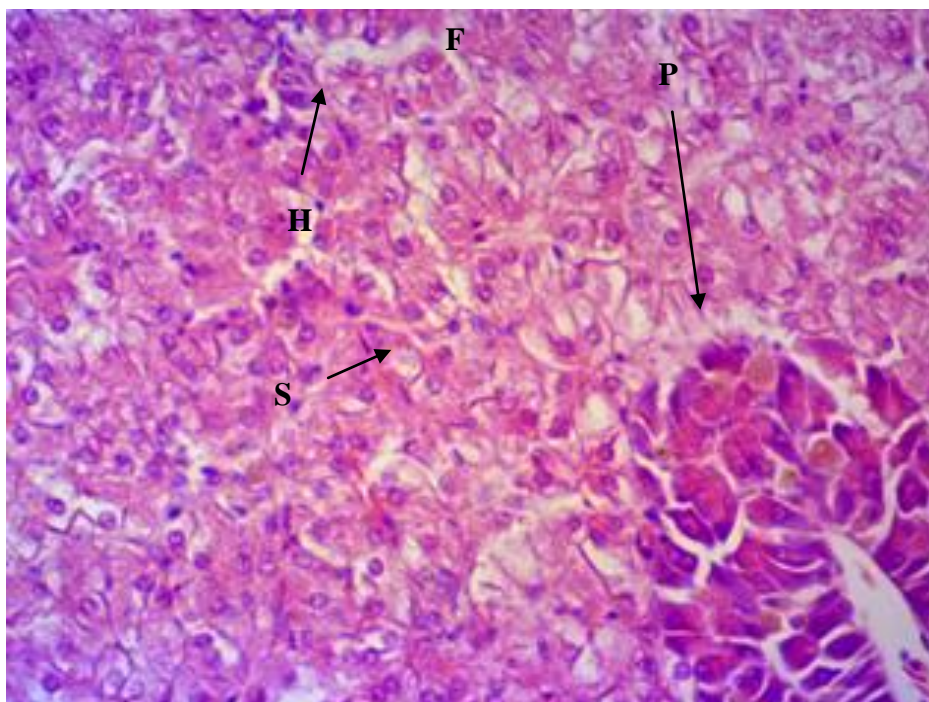


Figura 5 Fotomicrografia dos aspectos histológicos dos hepatócitos de tilápia do Nilo alimentadas com inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho. Disposição dos hepatócitos (H) circundados por capilares sinusóides (S), tecido pancreático exócrino intrahepático (P), fígado (F). Corado com HE. Aumento de 40x.

4.5 GLICOSE SANGUÍNEA

Os valores de concentração da glicose sanguínea (mg dL^{-1}) apresentaram efeito linear crescente em função da inclusão de glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas após 1h00min da alimentação(Fig. 6).

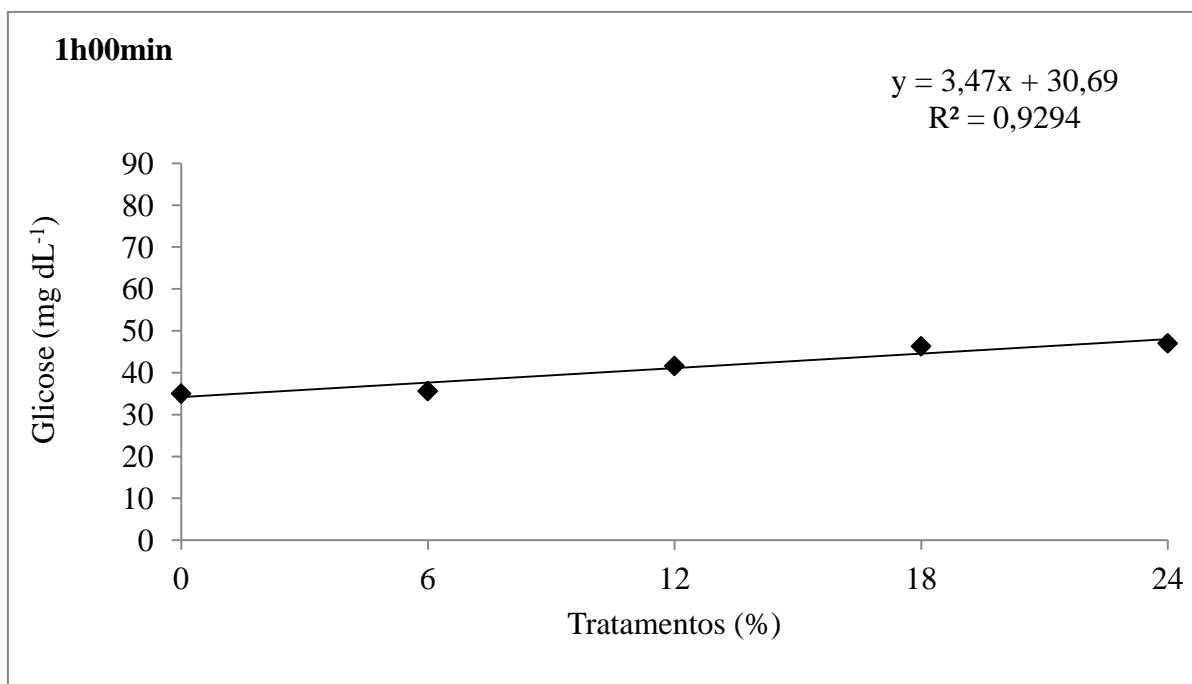


Figura 6 Pico da glicose sanguínea nas dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol para a fase crescimento/engorda de tilápia do Nilo.

Após serem alimentadas, foi no tempo de 1h30min que observou-se o pico de glicose sanguínea (mg dL⁻¹) nas tilápias. Os maiores níveis de pico de glicose (mg dL⁻¹) foram observados no tratamento controle (sem glicerol bruto) ($P < 0,05$), sendo observado um efeito linear decrescente com o aumento de inclusão de glicerol na dieta. Contudo, nos tratamentos com 18% e 24% de glicerol bruto em substituição ao milho, notou-se uma normalidade nos níveis basais (Fig. 7) já após 1h30 após alimentação.

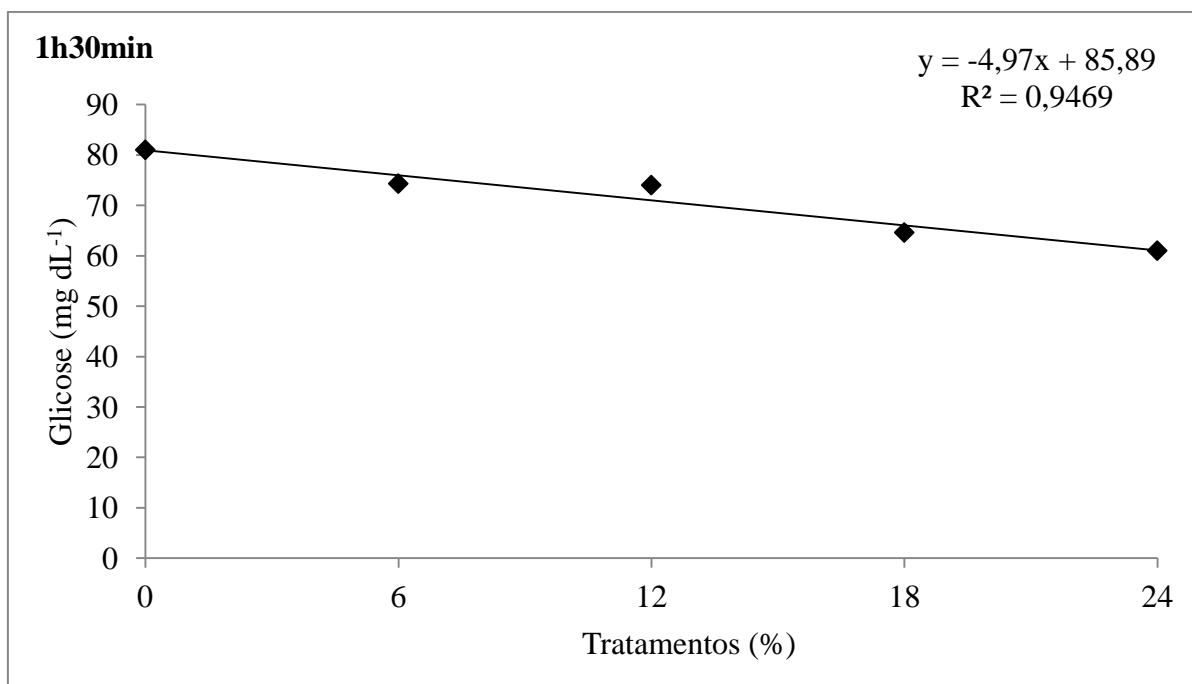


Figura 7 Pico da glicose sanguínea nas dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol para a fase crescimento/engorda de tilápia do Nilo. * Médias seguidas pela mesma letra na linha, nos diferentes tratamentos, não diferem estatisticamente pela análise de variância à 5% de probabilidade.

Após 2h00min da alimentação os níveis da glicose sanguínea (mg dL⁻¹) voltaram a se reestabelecer, voltando a seu nível basal (Fig. 8) para todos os tratamentos, entretanto houve um efeito linear decrescente do teor de glicose observado com o aumento da inclusão de glicerol em substituição ao milho em dietas de tilápia do Nilo ($P < 0,05$).

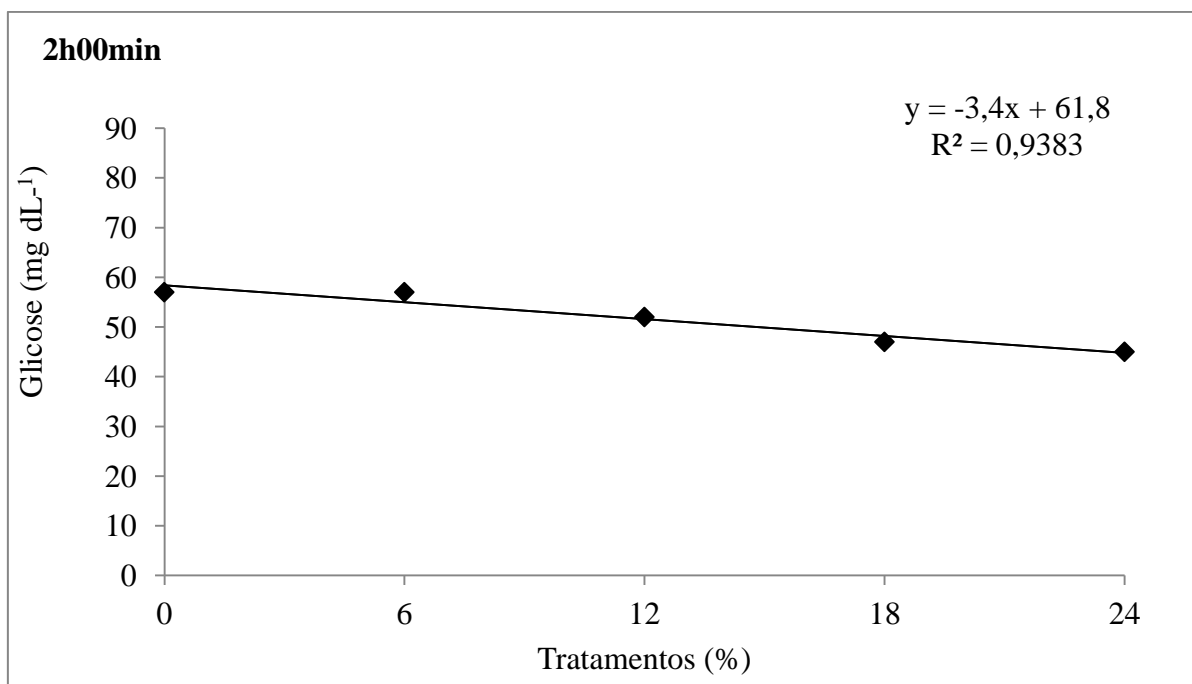


Figura 8 Pico da glicose sanguínea nas dietas contendo diferentes níveis de substituição do milho pelo glicerol para a fase crescimento/engorda de tilápia do Nilo.

5. DISCUSSÃO

5.1 QUALIDADE DE ÁGUA

Devido ser um sistema de recirculação foram verificadas as médias das variáveis físico-químicas da água entre todos os tratamentos, que não tiveram diferenças ($P > 0,05$). Nas variáveis, a temperatura média (26,4 °C) e oxigênio dissolvido (4,69 mg L⁻¹), ficaram dentro dos limites toleráveis para a espécie conforme relatado por Boyd (1990). O pH do presente trabalho (7,31), ficou dentro dos padrões aceitáveis como descrevem Lopes *et al.* (2001), comentando que o pH da água é um importante fator para assegurar uma boa produção de peixes, sendo usualmente sugerida a faixa de pH de 6,5 a 9,0 mas a faixa ótima pode diferir para diferentes espécies.

A alcalinidade (93,49 mg L⁻¹ CaCO₃), esteve dentro dos limites aceitáveis para a criação da espécie, de acordo com a literatura. Haroon & Pittman (1997) em trabalhos realizados com *Oreochromis spp.*, os níveis de alcalinidade total variaram de 60 a 100 mg L⁻¹ CaCO₃, já Mohanty *et al.* (2004) encontraram variações de alcalinidade total entre 49 e 119 mg L⁻¹ CaCO₃. A média da dureza total do presente trabalho ficou em 50,52 mg L⁻¹ CaCO₃, valores toleráveis a espécie (Martins, 1986). Zweig *et al.* (1999) comentaram que os níveis de

dureza total em tanques de piscicultura devem estar acima de 20 mg L⁻¹ CaCO₃ a fim de obter-se um bom desenvolvimento das espécies de peixes.

Para a amônia os valores médios foram de 0,64 mg L⁻¹. Lamarié *et al.* (2004) em estudos com peixes observaram que níveis de amônia entre 0,06 e 3,1 mg L⁻¹ interferem no desenvolvimento e sobrevivência de peixes, porém no presente trabalho não foi verificado nenhuma influência da amônia sobre os parâmetros zootécnicos. Em estudo realizado por Karasu-Benli e Köksal (2005), a amônia determinada para larvas e juvenis de tilápia do Nilo foi, respectivamente de 1,01 e 7,4 mg L⁻¹, dados superiores ao do presente trabalho. A tilápiado Nilo revelou ser uma das espécies mais tolerantes à amônia, até mesmo mais tolerante que o "catfish", que tolera níveis para amônia variando entre 0,98 e 4,2 mg L⁻¹ (EPA, 1999) e era, até então, considerada a espécie mais tolerante à amônia.

Os valores encontrados para nitrito no trabalho foram 0,067 mg.L⁻¹ e estavam dentro da faixa indicada como adequada para piscicultura. Estes dados estão de acordo com Mohanty *et al.* (2004) que também obtiveram valores baixos para o nitrito entre 0,006 e 0,07 mg L⁻¹. Segundo Sipaúba-Tavares (1994) o nível máximo para nitrito é de 0,5 mg L⁻¹ em sistemas de produção de peixes, porém nesses níveis o nitrito é muito tóxico para os peixes, pois se combina à hemoglobina do sangue originando a metahemoglobina, a qual não consegue transportar o oxigênio, resultando em hipóxia tecidual (Knudsen & Jensen, 1997).

5.2 DESEMPENHO ZOOTÉCNICO

A não alteração dos dados de desempenho zootécnico dos peixes, e diminuição ($P < 0,05$) da gordura visceral no presente experimento, demonstra que a tilápia do Nilo não apresentou problemas relativos ao uso do glicerol bruto e obteve um bom crescimento.

Apesar de pouco se conhecer do glicerol bruto como ingrediente na alimentação animal quando comparado a outros ingredientes convencionais, este já está sendo estudado e utilizado há muitas décadas atrás. Já em 1925 Chambers & Deuel, demonstraram o potencial glicerol bruto, a dois cachorros após fornecerem 8,5g do subproduto.

No presente trabalho, com a inclusão do glicerol em substituição ao milho, o índice de gordura visceral dos peixes diminuiu, mostrando que o glicerol promove aceleração do metabolismo energético, prevenindo a deposição de gordura visceral, e poupando a proteína corporal como fonte de energia. Os menores índices foram observados com o nível

de 16,45% de inclusão, que corresponde à uma substituição de 57,6% do milho pelo glicerol bruto. Os resultados encontrados não corroboram aos encontrados por Neu *et al.* (2012a), que não observaram influência do glicerol sobre a deposição de gordura visceral em juvenis de tilápia do Nilo.

A inclusão do glicerol na dieta de tilápia do Nilo, em substituição ao milho da dieta, não causou nenhuma alteração ou aumento no fígado dos peixes, como pode ser observado na Tabela 2, mostrando que os níveis crescentes do glicerol nas dietas não interferiram no índice hepatossomático ($P>0,05$). Desta maneira, os dados do presente estudo corroboram os dados de Lin (1977), que afirmou que o glicerol é absorvido no intestino, vai para a corrente sanguínea e posteriormente é absorvido e utilizado pelo fígado e tecidos para a síntese de glicose, via gliconeogênese ou produção de energia via glicólise e ciclo do ácido cítrico.

O presente resultado difere do estudo realizado por Lin *et al.* (1976) que verificaram o efeito do glicerol dietético na atividade lipogênica em ratos e frangos, e observaram que adição de 20% de glicerol na dieta de ratos por três semanas causou aumento do peso do fígado e um aumento marcante na atividade de enzimas lipogênicas no fígado (síntese de ácidos graxos, e enzima da clivagem do citrato).

A taxa de crescimento específico, o peso e comprimento final de tilápias do Nilo na fase de crescimento/engorda do presente trabalho não foram influenciados pela inclusão do glicerol bruto em substituição do milho ($P>0,05$), conforme descrito na (Tabela 2), esses resultados são semelhantes ao encontrado por Neu *et al.* (2012ab), com alevinos e juvenis de tilápia do Nilo alimentadas com rações formuladas contendo 0,0%, 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10,0% de glicerol bruto, que concluíram que os ambas fases de tilápias do Nilo aproveitaram eficientemente o glicerol bruto, demonstrando que pode ser incluído em dietas práticas para peixes até o nível de 10% de inclusão nas dietas, o que corresponde a 36% de substituição ao milho, sem causar danos aos animais. Dados semelhantes também foram observados por Li *et al.* (2010) que avaliaram cinco dietas experimentais, com os níveis de inclusão 0, 5, 10, 15 e 20% de glicerol bruto como fonte de energia em dietas de "catfish" em substituição de até 37% do milho e não encontram diferenças significativas no ganho de peso e taxa de eficiência alimentar dos peixes alimentados com as dietas de 0, 5 e 10% de glicerol.

Dados que se assemelham ao do presente trabalho também foram observados por Menton *et al.* (1986), alimentando trutas com dietas contendo de 1 a 12 % de inclusão de glicerol bruto, em dietas com baixa e alta energia que corresponde a substituição de 40% do farelo de trigo. Não observaram efeito no crescimento dos peixes, conversão alimentar peso

final, no índice hepatossomático, no rendimento de carcaça, ou conteúdo de glicogênio. O glicerol não foi um eficiente precursor para lipogênese nem favoreceu a estocagem de glicogênio no fígado. Os dados observados pelos autores vêm de encontro com o presente estudo, porém pode-se verificar que 100% do milho pode ser substituído pelo glicerol bruto nas dietas (inclusão de 24% de glicerol) sem afetar o desempenho zootécnico dos peixes.

Os dados de desempenho do presente estudo não corroboram com os resultados de Li *et al.* (2010) que verificaram em "catfish" alimentados com rações contendo 15 e 20% de inclusão de glicerol bruto apresentaram redução no ganho de peso e na eficiência alimentar quando este substituiu 56 e 75% do milho, respectivamente.

Segundo Furuya *et al.* (1998) a conversão alimentar de tilápias do Nilo com peso de 188,9 á 362,4g alimentadas durante 50 dias com ração peletizada contendo 25% de proteína bruta, foi de 2,18, enquanto no presente trabalho a média entre os tratamentos variando em torno de 1,75. Dessa forma, podemos afirmar que a presença do glicerol bruto não influenciou de forma negativa a conversão alimentar do presente estudo, apresentando valores melhores que encontrado na literatura.

No atual estudo, não foi verificado diminuição no rendimento de carcaça com e sem cabeça, nem no rendimento do tronco dos animais, com a inclusão do glicerol glicerol bruto em substituição do milho nas dietas. No presente trabalho os rendimentos de tronco variaram entre 47,86 (18% de glicerol) a 49,82% (6% de glicerol), corroborando com os trabalhos realizados por Clement & Lowell (1994) que estudaram o rendimento e composição da carcaça da tilápia do Nilo na fase de crescimento, e observaram um rendimento de tronco de 51 %. Estes resultados comprovam que não houve perdas associadas à inclusão do glicerol na dieta. Contreras-Guzmán (1994) avaliaram tilápias do Nilo na fase de engorda (585 g) e encontraram médias de 62,6% de carcaça, considerando a carcaça sem cabeça, pele e vísceras. No presente trabalho os valores foram um pouco superior ($67\% \pm 1,5$), porém deve-se considerar que havia pele nas pesagens. Em outro trabalho Novato & Viegas (1997) observaram valores de rendimento de carcaça sem cabeça de 75,5% para tilápia vermelha da Flórida, com peso de 451 a 550 g, valores superiores ao de presente estudo.

Os valores de rendimento de filé encontrados no presente experimento (36,89% a 38,01%), nos respectivos tratamentos com 0% e 24% de glicerol (Tabela 2), não diferiram ($P>0,05$) e são maiores que os obtidos por Clement & Lovell (1994); Ribeiro *et al.* (1998); Rutten *et al.* (2004) que encontraram valores de 25,4%, e estão próximos aos obtidos por Souza & Maranhão (2001). Stansby & Olcott (1963), citados por Freitas *et al.* (1979),

afirmaram que o rendimento de filé varia de acordo com a espécie, entre 20 a 40%. Santos *et al.* (1995) em estudos mencionaram rendimento de filé de 21% para o cascudo (*Hypostomus affinis*).

Para o bagre africano (*Clarias gariepinus*), Hoffman *et al.* (1993) obtiveram valores de rendimento de filé de 38,9 a 46,7%. Pouey & Stingelin (1996) observaram médias de 44% de rendimento de filé para o peixe-rei (*Odontesthes humensis*), com peso médio na faixa de 200 a 300g.

Contreras-Guzmán (1994) citam que a tilápia possui um dos menores rendimentos de filé (inferiores a 40%) quando comparada a outras espécies; segundo o mesmo autor, rendimentos obtidos por Freitas *et al.* (1979), para tilápias pesando de 400 a 600 g de peso vivo, foram acima de 32%. Souza *et al.* (1997) também citam rendimentos de filé de 35,8 a 37,2%, para tilápia do Nilo. Todavia, Macedo-Viegas *et al.* (1997) obtiveram porcentagens de 32,15 a 40,39%, para a mesma espécie, pesando de 250 a 450 g.

O rendimento de filé encontrado no presente trabalho foi também superior aos relatados normalmente pelos proprietários de frigoríficos (Clement & Lovell 1994). Isto se deve também ao fato da filetagem ter sido manualmente realizado por um único operador. O fato dos peixes serem médios dificultou a filetagem, de forma que exigiu maiores cuidados por parte do operador para a retirada do filé, com o objetivo de melhor aproveitamento de tecido muscular.

Embora seja recente a inclusão do glicerol bruto na nutrição de peixes, principalmente para as tilápias, já existem informações sobre o desempenho e o aproveitamento desse alimento em outros animais. Testando a inclusão de até 15% de glicerina bruta na dieta de galinhas poedeiras, Lammers *et al.* (2008a) não observaram qualquer efeito sobre o consumo diário de ração ou na produção de ovos, peso dos ovos e massa dos ovos produzidos. Dozier, *et al.* (2008) afirmaram que o glicerol bruto é utilizado eficientemente por frangos de corte. Min *et al.* (2010) para frangos, que com 10% de adição do produto não ocorre prejuízos produtivos. Já Simon *et al.* (1996) em frangos de corte, avaliando 5, 10, 15, 20 e 25% de glicerol na dieta, concluíram que a inclusão de até 10% deste produto pode ser utilizado sem afetar o desempenho dos animais corroborando com o presente estudo. Avaliando a inclusão de 5 e 10% de glicerol bruto, Lammers *et al.* (2007) não observaram qualquer efeito no desempenho de leitões na fase de creche. Lammers *et al.* (2008b) relatam que suínos em crescimento utilizam até 10% de glicerol na alimentação sem causar danos produtivos aos

animais. Outros dados similares ao do presente trabalho foram observados por Groesbecket al. (2008b), avaliando os efeitos da inclusão de 3, 6 e 12% de glicerol bruto associada com óleo de soja sobre o desempenho de leitões na fase de creche, que observaram um efeito linear positivo no ganho diário de peso dos leitões. Em uma revisão a respeito de uso de glicerina na dieta de monogástricos, Kerr *et al* (2008) relataram que a maioria dos trabalhos não verificou alteração na qualidade da carcaça quando o glicerol é adicionado à dieta em níveis de até 10%.

O peso final não sofreu influência da utilização do glicerol para tilápias do Nilo, diferente do que observado por Cerrate *et al.* (2006) que avaliaram a inclusão de 5 e 10% de glicerol bruto, em rações de frangos de corte e relataram que o nível de 10% afetou negativamente no peso final dos frangos.

A taxa de crescimento específico não foi afetada pela inclusão do glicerol, no presente estudo, variando entre 1,23 à 1,35 com 18% e 24% de glicerol, respectivamente, não corroborando os estudos realizados por Schieck *et al.* (2010), com suínos na fase de crescimento e terminação, que ao fornecerem na dieta 8% de glicerol bruto, observaram uma melhoria na taxa de crescimento. Para suínos de engorda, Della Casa *et al.* (2009) verificaram que 10% da inclusão do glicerol pode causar redução no crescimento e piora no índice de conversão alimentar.

Muitos são os estudos sobre os valores da energia que os peixes requerem na maioria dos ingredientes nacionais (Pezzato *et al.* 2002), principalmente em relação aos alimentos alternativos. A partir de rações com alimentos alternativos balanceados será possível obter melhores respostas de ganho de peso, rendimento de filé, conversão alimentar, aumento de lucros e, principalmente, minimizar o impacto ambiental que alguns desses alimentos podem proporcionar (Pezzato *et al.* 2004). O glicerol bruto em muitos casos é descartado no meio ambiente, causando assim danos ambientais. O glicerol pode servir como uma boa fonte energética, prontamente disponível, com menor custo em relação ao milho, aproveitando-se de um resíduo que pode ser um potencial poluidor, sem afetar de forma negativa o desempenho zootécnico de tilápias do Nilo na fase de crescimento/engorda.

5.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA CORPORAL

No presente estudo não houve alteração da proteína bruta corporal com a inclusão do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas, fato que confirma os resultados de Li *et al.* (2010) com a inclusão de glicerol para "catfish". Entretanto os valores de proteína bruta encontrados no presente estudo (21,39%) são significativamente superiores que encontrados por Oetterer *et al.* (2004) que observaram para tilápia vermelha na fase de crescimento valores médios de 16,62% e para tilápias do Nilo 17,08%.

Em estudos Menton *et al.* (1986) testando glicerol como fonte de energia em rações para truta arco-íris, verificaram que a inclusão de glicerol não afetou a composição corporal da truta ou na eficiência de converter a proteína da dieta em proteína dos tecidos, ao contrário do que se pode observar no presente trabalho.

Em relação à matéria mineral corporal, esta também não foi afetada pela inclusão do glicerol na dieta, mas também apresentou valores superiores (1,24%) aos reportados na literatura, que demonstraram valores de 1,07% e 1,09%, para as tilápias vermelhas e para as tilápias do Nilo, relativamente (Oetterer *et al.* 2004).

No presente trabalho o extrato etéreo e a umidade diferiram ($P < 0,05$) entre os tratamentos com a inclusão do glicerol bruto em substituição ao milho nas dietas. Os valores máximos de extrato etéreo (1,36%) e umidade (76,74%) encontrados no presente estudo, são inferiores aos encontrado por Oetterer *et al.* (2004), que observaram para tilápia vermelha em fase de crescimento valores médios de extrato etéreo de 1,68% e enquanto para tilápia do Nilo valores de 1,99%, e para umidade os valores encontrados foram de 79,20% e 78,43% para as tilápias vermelhas e tilápias do Nilo, respectivamente. Comparados ao presente estudo, maiores teores de extrato etéreo, 5,7 e 1,88%, foram encontrados por Clement & Lovell (1994) e Leonhardt *et al.* (2006) em filé da tilápia do Nilo, respectivamente.

Foi verificado um comportamento quadrático com a diminuição do extrato etéreo e aumento da umidade com níveis crescentes de glicerol na dieta para tilápia do Nilo, no presente estudo, corroborando os resultados encontrados por Li *et al.* (2010) que avaliaram adição de glicerol bruto como fonte de energia em dietas de "catfish" com os níveis de 0, 5, 10, 15 e 20% de glicerol bruto, em substituição ao milho. Os autores sugerem que o decréscimo no teor de lipídios pode ser explicado pela deficiência do "catfish" em metabolizar o glicerol para lipídio, fato que também pode explicar o presente estudo.

Os mesmos autores concluíram que o "catfish" pode utilizar cerca de 10% de glicerol bruto na dieta, resultando em 37% de substituição do milho, sem que os peixes apresentem efeitos adversos sobre os parâmetros avaliados, entretanto, como os próprios autores destacam rações não foram balanceadas com valores de energia digestível dos alimentos. A menor deposição de lipídios no presente estudo foi verificada com a inclusão de 14,39% de glicerol, representando 50,37% de substituição do milho da ração, tendo sido realizado o balanceamento da ração com os valores de energia digestível do alimento.

A menor deposição de extrato etéreo nos filés da tilápia do Nilo com inclusão de glicerol em substituição do milho no presente estudo quando comparada com outros dados da literatura, provavelmente torna este subproduto com maior aceitação no mercado consumidor e pode ser explicado pelo glicerol possivelmente ter interferência no metabolismo energético. O glicerol poupou a utilização e / ou o catabolismo das proteínas da dieta como uma fonte de energia. E também que o glicerol afeta a lipogênese, desacelerando esta via metabólica, como havia citado Li *et al.* (2010). O teor de gordura é de importância na vida útil dos produtos e vital para a aceitação geral pelos consumidores (Leonhardt, *et al.* 2006).

Por fim, de maneira geral o filé da tilápia do Nilo possui em média 75% de água, entre 3,4% a 8,5% de lipídeos, 20% de proteína bruta e 2% de matéria mineral (Kubitza 2000). Segundo Franco (2001) quando comparamos a carne de boi com a de peixe, fica evidente que a carne de peixe é menos calórica, já que esta contém 80 calorias, enquanto que a outra representa 111 calorias.

5.4 HISTOLOGIA

As características descritas para a vilosidade intestinal das tilápias do Nilo suplementadas com glicerol bruto estão dentro da normalidade descrita por Takashima e Hibiya (1995) para peixes teleósteos e para as tilápias do Nilo segundo Gargiulo *et al.* (1998). Os resultados deste estudo corroboram com a descrição da morfologia do fígado de teleósteos descrita por Takashima & Hibiya (1995) e para o hepatopâncreas da tilápia do Nilo segundo Vicentini *et al.* (2005). Como não houve diferenças significativas nas análises morfométricas das alturas das vilosidades intestinais, nem nas áreas dos hepatócitos, isso sugere preservação dessas estruturas, independentemente da inclusão dos diferentes níveis de glicerol na ração das tilápias do Nilo. A ausência de resposta na altura e largura das vilosidades, a qual poderia

indicar alterações funcionais na capacidade absorptiva da mesma, corroborada com o fato desta não apresentarem alterações na organização morfológica da parede, podendo ser justificada pela falta de desafio nas condições experimentais e nas dietas fornecidas ao peixes.

Os peixes tendem a apresentar menor tendência a disporem-se em cordões ou lóbulos como encontrados em mamíferos sendo este aspecto dentro da normalidade para teleósteos. Neste tecido também foi observada a presença de células acinares pancreáticas contendo grânulos secretores eosinófilos o que leva este tecido a ser chamado de hepatopâncreas (Bruslé & Anadon, 1996).

Bruslé & Anadon (1996) observaram que o tecido hepático de peixes podem apresentar coloração pálida ou amarelada, devido ao acúmulo de lipídio no interior das células hepáticas. Hepatopâncreas com este padrão de coloração foi encontrado em peixes do mar (*Anguilla anguilla*, *Dicentrarchus labrax* e *Sparus aurata*) quando alimentadas com ração artificial, devido à acumulação de lipídios (Bac *et al.*, 1983 apud Bruslé & Anadon, 1996). No presente trabalho não foi observado nenhum animal com tal característica, sugerindo que o hepatopâncreas dos exemplares coletados encontrava-se com aparência saudável.

O fígado é um órgão central, com inúmeras funções vitais do metabolismo básico dos vertebrados (Arias *et al.* 1998), nos peixes os hepatócitos podem ser considerados o primeiro alvo da toxicidade de uma substância, o que caracteriza o fígado como um órgão biomarcador da poluição ambiental (Zelikoff, 1998). Pode-se dizer então que o hepatopâncreas e o intestino das tilápias alimentadas com os diferentes níveis de glicerol bruto na dieta não foram afetados pela presença de algumas impurezas, que podiam apresentar características de toxidade contidas na composição do glicerol, como o metanol e alguns metais, que mesmo em quantidades diminutas, poderiam interferir no metabolismo dos peixes.

Dentre os metais encontrados na composição do glicerol, destaca-se o chumbo, molibdênio e o alumínio, há também a presença de ácidos graxos, dentre eles os essenciais linoléicos e linolênicos. Contudo, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) por meio da resolução 386/1999, classifica o glicerol como produto umectante na lista de aditivos permitidos para a alimentação humana e animal. Contudo pode se observar que o glicerol bruto no presente trabalho não atrapalhou no desenvolvimento dos peixes e conseqüentemente não prejudicou seu metabolismo, onde o hepatopâncreas e o intestino não sofreram nenhum dano.

5.5 GLICOSE SANGUÍNEA

Foi realizada a hematologia pelo motivo da glicose ser um importante combustível metabólico nos vertebrados e vários mecanismos atuarem para assegurar um constante suprimento para os tecidos glicose-dependentes, tais como células vermelhas do sangue, tecidos nervosos, entre outros. A glicose pode originar-se do intestino durante a digestão e absorção de carboidratos ingeridos além de ser produzida pelo fígado e rins por glicogenólise, ou através da gliconeogênese a partir de lactato, aminoácidos e glicerol (Christiansen & klungsoyr 1987). Além disso, o glicerol bruto é um importante componente estrutural dos triglicerídeos e fosfolipídios, e pode entrar na via metabólica da glicose em uma etapa diferente dos outros precursores glicogênicos (Lehninger 2006).

Lin (1977) afirma que o glicerol é absorvido no intestino e vai para a corrente sanguínea. Uma vez digerido, absorvido e transferido para o fígado e tecidos, o glicerol pode ser convertido em glicose via gliconeogênese (Emmanuel *et al.* 1983) e/ou oxidado para a produção de energia através da glicólise e do ciclo do ácido cítrico (Rosebrough *et al.* 1980).

Verifica-se no presente estudo que os tratamentos com glicerol apresentaram os menores níveis de glicose sanguínea, fato que deve estar relacionado com o decréscimo do amido (milho) da ração. Comparando os tempos após a alimentação (1h00min, 1h30min e 2h00min), em que foram avaliados os níveis de glicose sanguínea pode-se observar que nos peixes alimentados com os maiores níveis de inclusão do glicerol não houve um pico significativo na glicose sanguínea.

O pico de glicose no tratamento controle (0% de inclusão de glicerol) foi alto, passando de 80 mg dL⁻¹ após 1h30min da alimentação. Já com 24% de inclusão esse pico foi menor, próximo de 60 mg dL⁻¹. Segundo Moreira *et al.* (2011) que realizaram a determinação dos níveis basais de glicose sanguínea a partir de um grupo controle de cinco indivíduos de tilápia do Nilo na fase de crescimento, que não foram expostos ao agente anestésico e estavam em jejum, a concentração basal obtida de glicose foi de 60 mg dL⁻¹.

O nível basal das tilápias nos tratamentos com 18% e 24% de inclusão do glicerol se mantiveram constantes antes e depois do pico de glicose no sangue, próximo de 40 mg dL⁻¹. Foram observados nestes tratamentos, que mesmo após o pequeno pico de glicose, esse rapidamente foi restabelecido o nível basal. Os presentes dados corroboram os resultados obtidos por Azevedo *et al.* (2006) que utilizando tilápias de tamanho semelhante com o do presente estudo (420g) provenientes de um pesque-pague, alimentadas com ração extrusada

comercial e anestesiadas em soluções contendo benzocaína na proporção de 1 g para dez litros de água, determinaram os valores de glicose sanguínea próximo a 35,8 mg dL⁻¹.

Valores semelhantes ao do presente trabalho, também foram observados por Borges *et al.* (2004) para machos de jundiá, que destacaram que os valores normais de glicose variam de 43 a 78 mg dL⁻¹. Como pode ser observado nas Figuras 7 e 8, após o pico de glicose sanguínea no tempo de 1h30min, os peixes alimentados com a ração controle (0% de glicerol), somente milho (amido), apresentaram um tempo maior para que a glicose sanguínea restabelece-se o nível basal. O presente resultado está de acordo com a literatura, pois segundo Viola & Arieli (1983); Anderson *et al.* (1984); Degani & Revach, (1991) e Shiau (1997), a tilápia do Nilo utiliza o amido de maneira eficiente, em relação a outras espécies de peixe, no entanto Wright *et al.* (1999), afirmaram que apesar disto, a ingestão de altos níveis de amido resulta em níveis de glicose sanguínea altas e a sua volta a níveis basais são muito mais lentos, comparada com outros alimentos, como confirmado no presente estudo.

Foi observado no estudo que nos tempos de 1h00min, 1h30min e 2h00min após a alimentação, houve variações nos teores de glicose no plasma sanguíneo ($P < 0,05$). Hrubec *et al.* (2000) em estudos com tilápias híbridas (*Oreochromis hybrid*) alimentadas com uma dieta comercial, encontraram valores médios de glicose 46 mg dL⁻¹ porém, com intervalos que podem alcançar quantidades de 69 e 318 mg dL⁻¹.

Dados que não corroboram com ao do presente estudo foram observados por Menton *et al.* (1986) testando glicerol como fonte de energia em rações para truta arco-íris, alimentadas com 6 e 12% de glicerol, apresentaram altos níveis de glicerol no sangue, comparadas com controle, indicando que o glicerol estava sendo convertido em glicose, ou seja, não foi uma fonte de energia eficiente para truta

Uma dos possíveis motivos dos tratamentos com maiores quantidades de glicerol não terem acarretado em um elevado pico de glicose pode estar relacionado com a absorção do glicerol variar entre 70 a 95% (Kerr & Dozier, 2008) devido possivelmente ao seu baixo peso molecular, fazendo com que ocorra a absorção passivamente, ao contrário da assimilação dos carboidratos, que requerem a digestão completa antes de serem absorvidos (Dozier *et al.* 2008). Apesar da sua alta absorção no intestino dos animais, o excesso de glicerol pode ser apenas parcialmente metabolizado no organismo, e o restante excretado. Esse efeito é maior quando os animais são submetidos a altos níveis de inclusão do produto na alimentação (Dasari, 2007).

6. CONCLUSÃO

O glicerol bruto pode substituir todo o milho em rações peletizadas para a tilápia do Nilo durante a fase de crescimento/engorda.

7. REFERÊNCIAS

- Abdalla, A.L., Silva Filho, J.C., Godoi, A.R., Carmo, C.A. & Paula Eduardo, J.L. (2008) Utilização de subprodutos da indústria de biodiesel na alimentação de ruminantes. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **37**, 260-268.
- Anderson, J., Jackson, A.J., Matty, A.J. & Capper, B.S. (1984) Effects of dietary carbohydrates and fibre on the tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Aquaculture*, **13**, 265-272.
- Anvisa (Agência de vigilância sanitária) - Resolução nº 386 de 5 de Agosto de 1999. *Regulamento técnico sobre aditivos utilizados Segundo as boas práticas de fabricação e suas funções*. Disponível em: www.anvisa.gov.br/alimentos/aditivos_alimentares.htm. Acesso em 10 de fevereiro de 2014.
- Arias, I.M., Jakoby, W.B., Popper, H., Schachter, D. & Schafritz, D.A. (1998) eds The liver: *Biology and pathobiology*. Raven Press, pp. 3-10.
- Azevedo, T.M.P., Martins, M.L., Yamashita, M.M. & Francisco, C.J. (2006) Hematologia de *Oreochromis niloticus*: comparação entre peixes mantidos em piscicultura consorciada com suínos e em pesque-pague no vale do rio Tijucas, Santa Catarina, Brasil. *B. Inst. Pesca.*, São Paulo, **32**(1), 41-49.
- Baumgarten, M.G.Z. (1996) Manual de análises em oceanografia química. Rio Grande: Ed. Furg, p.132.
- Berenchtein, B., Costa, L.B., Braz, D.B., Almeida, V.V., Tse, M.L.P. & Miyada, V.S. (2010) Utilização de glicerol na dieta de suínos em crescimento e terminação. *Revista Brasileira de Zootecnia*, **39**(7), 1491-1496.
- Bernal, J., Dios, G.F.J., Viana, C.M., Avila, G.E. & Shimada, A.S. (1978) Efecto de La inclusión de glicerol o aceite vegetal a dietas com melaza para suínos e aves em crecimiento. *Veterinaria Mexicana*, **3**, 91-94.
- Boscolo, W.R., Hayashi, C., Meurer, F. Feiden, A. & Bombardelli, R.A. (2002) Digestibilidade Aparente da Energia e Nutrientes de Alimentos Convencionais e Alternativos para a Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*, L.). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **31**(2), 539-545.
- Borges, A., Scotti, L.V., Siqueira D.R., Jurinitz, D.F., & Wassermann, G.F. (2004) Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*). *Fish Physiology and Biochemistry*, **30**, 21-25

- Boyd, C.E. (1990) Water quality in ponds for aquaculture. Alabama: *Auburn University*, pp. 482.
- Bruslé, J. & Anadon, G.G. (1996) The structure and function of fish liver. In: Munshi, J. S.D. & Dutta, H.M. Editora Fish Morphology horizon of new research. Science Publishers Inc, pp. 77-93.
- Cerrate, S., Yan, F., Wang, Z., Coto, C., Sacakli, P. & Waldroup, P.W. (2006) Evaluation of glycerine from biodiesel production as a feed ingredient for broilers. *International Journal of Poultry Science*, **5**(11), 1001-1007.
- Chambers, W.H. & Deuel, H.J. (1925) *Journal of Biological Chemistry*, **65**, 21-29.
- Christiansen, D.C. & Klungsoyr, L. (1987) Metabolic utilization of nutrients and the effects of insulin in fish. *Comparative Biochemistry and Physiology*, **88**, 701-711.
- Clement, S. & Lovell, R.T. (1994) Comparison of processing yield and nutrient composition of cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and channel catfish (*Ictalurus punctatus*). *Aquaculture*, Amsterdam, **119**, 299-310.
- Costa, R., (2008) Glicerina: o tamanho do problema. *BiodieselBR*, **1**(3), 16-20.
- Dasari, M. (2007) Crude glycerol potential described. *Feedstuffs Reprint*, **79**, 1-3.
- Degani, G. & Revach, A. (1991) Digestive capabilities of three commensal fish species: carp, *Cyprinus carpio* L., tilapia, *Oreochromis aureus* X *O. niloticus*, and African catfish, *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). *Aquaculture and Fisheries Management*, **22**, 397-403.
- Della Casa, G., Bochicchio, D., Faeti, V., Marchetto, G., Poletti, E., Rossi, A., Garavaldi, A., Panciroli, A. & Brogna, N. (2009) Use of pure glycerol in fattening heavy pigs. *Meat Science*, **81**(1), 238-244.
- Donkin, Shawn S. (2008) Glycerol from biodiesel production: the new corn for dairy cattle. *Revista Brasileira de Zootecnia, Viçosa*, **37**.
- Dozier, W.A., Kerr, B.J., Corzo, M.T., Kidd, T.E., Weber, K. & Bregendahl, K. (2008) Apparent metabolizable energy of glycerin for broiler chickens. *Poultry Science*, **87**, 317-322.
- El-Sayed, A. M. (2006) Tilapia Culture. London: Cabi. pp. 277.
- Emmanuel, B., Berzins, R. & Robblee, A.R. (1983) Rates of entry of alanine and glycerol and their contribution to glucose synthesis in fasted chickens. *British Poultry Science*, **24**, 565-571.
- EPA – United States Environmental Protection Agency. (1999) Update of Ambient Water Quality Criteria for Ammonia. EPA-822-R-99-014. EPA, Washington.
- Franco, G. (2001) Tabela de composição química dos alimentos. São Paulo, Atheneu.

Freitas, J.V.F., Gurgel, J.J.S. & Machado, Z.L. (1979) Estudos de alguns parâmetros biométricos e da composição química, inclusive sua variação sazonal, da tilápia do Nilo, *Sarotherodon niloticus* (L.) do açude público “Paulo Sarasate” (Reriutaba, Ceará, Brasil), durante os anos de 1978 e 1979. *Boletim Técnico*, **37**(2) 135-151.

Furuya, W.M., Souza, S.R., Furuya, V.R.B., Hayashi, C. & Ribeiro, R.P. (1998) Dietas extrusadas e peletizadas para machos revertidos de tilápias do Nilo (*Oreochromis niloticus* L.), na fase de terminação, *Ciência Rural*, **28**, 483-487.

Gargiulo, A.M., Ceccarelli, P., Dall’ Aglio, C & Pedini, V. (1998) Histology and ultrastructure of the gut of the tilapia (*Tilapia* spp.), a hybrid teleost. *Anatomic Histology and Embryology*, **27**, 89-94.

Groesbeck, C.N., Mckinney, L.J., Derouchey, J.M., Tokach, M.D., Goodband, R.D., Dritz, S.S., Nelssen, J.L., Duttlinger, A.W., Fahrenholz, A.C. & Behnke, K.C. (2008) Effect of crude glycerol on pellet mill production and nursery pig growth performance. *Journal of Animal Science*, **85**(1), 201-202.

Haroon, A.K.Y. & Pittman, K.A. (1997) Rice-fish culture: feeding, growth and yield of two size classes of *Puntiusgonionotus* Bleeker and *Oreochromis* spp. in Bangladesh. *Aquaculture*, **154**, 261-281.

Hoffman, L.C., Casey, N.H. & Prinsloo, J.F. (1993) Carcass yield and fillet chemical composition of wild and farmed African sharptooth catfish, *Clarias gariepinus*. Bordeaux, France: European, *Aquaculture Society*, **18** 421-432.

Hrubec, T.C., Cardinale, J.L. & Smith, S.A. (2000) Hematology and plasma chemistry reference intervals for cultures tilapia (*Oreochromis hybrid*). *Veterinary Clinical Pathology*, **29**, 7-12.

Karasu-Benli, A.C. & Köksal, G. (2005) The acute toxicity of ammonia on tilapia (*Oreochromisniloticus* L.) larvae and fingerlings. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, **29**, 339-344.

Kerr, B.J. & Dozier, W.A. (2008) Crude glycerin for monogastrics feeds. *Render Magazine*, **37**, 10-11.

Kerr, B.J., Shurson, G. C., Johnston, L.J., Dozier, III, & William A. (2011) Utilization of Crude Glycerin in Nonruminants. Shanghai: *Biodiesel- Quality, Emissions and By-Products*, pp, 380.

Kijora, C., Bergner, H., Kupsch, R.D. & Hagemann L. (1995) Glycerol as a feed component in fattening pigs. *Archives of Animal Nutrition*, **47**(4), 345-360.

Knudsen, P.K. & Jensen, F.B. (1997) Recovery from nitrite-induced methemoglobinemia and potassium balance disturbances in carp. *Fish Physiology Biochem*, **16**, 1-10.

Koroleff, F. (1976) Determination of nutrients. In: Grasshoff, K. *Methods of seawater analysis*. Verlag Chemie Weinheim, pp. 117-181.

- Kubitza, F. (2000) Tilápia: *Tecnologia e planejamento na produção comercial*, Jundiaí.
- Lamarié, G., Dosdat, A., Covès, D., Dutto, G., Gasset, E. & Ruyet, P. (2004) Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, **229**, 479-491.
- Lammers, P., Kerr, B.J., Honeyman, M.S., Stalder, K. Dozier, W.A., Weber, T.E., Kiss, M.T. & Bregendahl, K. (2008a) Nitrogen-corrected apparent metabolizable energy value of crude glycerol for laying hens. *Journal of Animal Science*, Champaign, **87**(1), 104-107.
- Lammers, P., Kerr, B.J., Weber, T.E., Dozier, W.A., Kiss, M.T., Bregendahl, K. & Honeyman, M.S. (2008b) Digestible and metabolizable energy of crude glycerol for growing pigs. *Journal of Animal Science*, Champaign, **86**, 602-608.
- Lehninger, A.L. & Nelson, K.Y. (2006) *Princípios de Bioquímica*. ed 4. São Paulo: Sarvier
- Leonhardt, J.H., Caetano Filho, M., Frossard, H. & Moreno, A.M. (2006) Morphometrics, fillet yield and fillet composition in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, strains thaichitralada, Brazil local and their hybrid; Semina: *Ciências agrárias*, **27**(1), 125-132.
- Li, M.H., Minchew, C.D., Oberle, D.F. & Robinson, E.H. (2010) Evaluation of glycerol from biodiesel production as a feed ingredient for channel catfish *Ictalurus punctatus*; *Journal of the World Aquaculture Society*, Baton Rouge, **41**(1), 130-136.
- Lin, E.C.C. (1977) Glycerol utilization and its regulation in mammals. *Annual Review of Biochemistry*, **46**, 765-795.
- Lin, M.H., Romsos, D.R. & Leveille, G.A. (1976) Effect of glycerol on lipogenic enzyme activities and on fatty acid synthesis in the rat and chicken. *Journal of Nutrition*, **106**, 1668-1677.
- Lopes, J.M., Silva, L.V.F. & Baldisserotto, B. (2001) Survival and growth of silver catfish larvae exposed to different water pH. *Aquaculture International*, **9**, 73-80.
- Macêdo, J.A.B. (2003) *Métodos Laboratoriais de Análises Físico-Químicas e Microbiológicas*. ed. 2. pp. 450.
- Macedo-Viegas, E.M., Souza, M.L.R. & Kronka, S.N. (1997) Estudo da carcaça de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*), em quatro categorias de peso. *Revista Unimar*, **19**(3), 863-870.
- Martins, E.L. (1986) Utilization of free glycerol as a source of dietary energy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, Amsterdam, **56**, 215-227.
- Menton, D.J., Slinger, S.J. & Hilton, J.W. (1986) Utilization of free glycerol as a source of dietary energy in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Aquaculture*, **56**, 215-227.

- Meurer, F., Hayashi, C., Boscolo, W.R. Santos, L.D., Wolf, L. & Colpini, L.M.S. (2007) Exigencia de proteína digestível para juvenis de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) em baixas temperaturas. *Revista Científica de Produção Animal*, **9**(1), 53-64.
- Meurer, F., Franzen, A., Piovesan, P., Rossato, K.A. & SANTOS, L.D. dos. (2012) Apparent energy digestibility of glycerol from biodiesel production for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linnaeus 1758). *Aquaculture Research*, **43**, 1734-1737.
- Min, Y.N., Yan, F., Liu, F.Z., Coto, C. & Waldroup, P.W. (2010) Glycerin-A new energy source for poultry. *International Journal of Poultry Science*, **9**, 1-4.
- Mohanty, R.K., Verma, H.N. & Brahmanand P.S. (2004) Performace evolution of rice integration system in rainfed medium land ecosystem. *Aquaculture*, **230**, 125-135.
- Moreira, A.G.L., Teixeira, E.G., Moreira, R.L. & Farias, W.R.L. (2011) Blood glucose from Nile tilapia juveniles anesthetized with clove oil; *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, **12**(3), 794-804.
- Neu, D.H., Furuya, W.M., Boscolo, W.R., Potrich, F.R., Lui, T.A. & Freiden, A. (2012) Glycerol inclusion in the diet of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) juveniles. *Aquaculture Nutrition*, **19**, 211-217.
- Neu, D.H., Furuya, W.M., Yamashiro, D., Bittencourt, F., Moro, E.B., Fernandes, D.R.A., Boscolo, W.R. & Feiden, A. (2012) Glicerol na dieta de alevinos de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Agrarian*, **5**, 288-294.
- Novato, P.F.E. & Viegas, E.M.M. (1997) Carcass yield analyses of Florida Red Tilapia in three weight classes. In: *International Symposium Biology of Tropical Fishers*, pp.150.
- Oetterer, M., Siqueira, A A.Z.C. & Gryscek, S.B. (2004) Tecnologias emergentes para processamento do pescado produzido em piscicultura. *Tropical Intensiva*.
- Pezzato, L.E.; Barros, M.M.; Fracalossi, D.; Cyrino, J.E.P. 2004 Nutrição de Peixes. In: Cyrino, J.E.P.; Urbinati, E.C.; Fracalossi, D.M. *Tópicos Especiais em Piscicultura de água Doce Tropical Intensiva*. Aquabio, **1**, 75-170.
- Pezzato, L.E., Miranda, E.C., Barros, M.M., Pinto, L.G.Q., Furuja, W.M & Pezzato, A.C. (2002) Digestibilidade aparente de ingredientes pela tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*). *Revista Brasileira de Zootecnia*, **31**, 1595-1604.
- Pouey, J.F. & Stingelin, L.A. (1996) Rendimento da carcaça e da carne do peixe-rei (*Odontesthes humensis*), na faixa de 200 a 300 g. In: *Simpósio brasileiro de aquicultura*, **9**, Sete Lagoas: ABRAq, pp. 141.
- Ribeiro, L.P., Lima, L.C., Turra, E.M., Ribeiro, T.G.Q. & Miranda, M.O.T. (1998) Efeito do peso e do operador sobre o rendimento de filé em tilápia vermelha, *Oreochromis* spp. In: *aquicultura brasil. Anais...* Recife: SIMBRAQ, **2**, 773-778.

- Rosebrough, R.W., Geis, E., James, P., Ota, H. & Whitehead, J. (1980) Effects of dietary energy substitutions on reproductive performance feed, efficiency and lipogenic enzyme activity on large white turkey hens. *Poultry Science*, **59**, 1485-1492.
- Rutten, M.J.M., Bovenhuis, H. & Komen, H. (2004) Modeling fillet traits based on body measurements in three Nile tilapia strains (*Oreochromis niloticus* L.). *Aquaculture*, Amsterdam, **231**, 113-122.
- Schieck, S.J., Shurson, G.C., Kerr, B.J. & Johnston, L.J. (2010) Evaluation of glycerol, a biodiesel coproduct, in grow-finish pig diets to support growth and pork quality. *Journal of Animal Science*, **88**, 3927-3935.
- Schröder, A. & Südekum, K.H. (2007) Glycerol as a by-product of biodiesel production in diets of ruminants. Kiel: *University of Kiel*, Available at: <<http://regional.org.au/au/gcirc/1/241>>.
- Shiau, S.Y. (1997) Utilization of carbohydrates in warmwater fish - with particular reference to tilapia, *Oreochromis niloticus* x *O. aureus*. *Aquaculture*, **151**, 79-96.
- Silva, D.J. & Queiroz, A.C. (2002) *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. ed. 3. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, p. 235.
- Simon, A., Bergner, H. & Schwabe, M. (1996) Glycerol as a feedingredient for broilerchickens. *Archives of Animal Nutrition*, Berlin, **49**(2), 103-112.
- Simoës, L.N., P, G. & GOMES, L.C. (2010) Óleo de cravo como anestésico em adultos de tilápia do Nilo. *Pesquisa agropecuária brasileira*. [online], **45**(12), 1472-1477.
- Sipaúba-Tabares, L.H. (1994) Limnologia aplicada à aqüicultura. Jaboticabal: FUNEP, 70p. Source for poultry. *Int. Journal Poultry Science*, **9**, 1-4.
- Souza, J.P.D, Duarte, G, Basile Filho, A. (2002) Near miss maternal mortality in developing countries. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology* (**80**), 104.
- Souza, M.L.R., Castagnolli, N. & Kronka, S.N. (1997) Nile tilapias carcass characteristics dependence on stocking density and aeration system. In: The annual international conference. Exposition of The world aquaculture society, Seattle. *World Aquaculture Society*, pp. 398.
- Souza, M.L.R. & Maranhão, T.C.F. (2001) Rendimento de carcaça, filé e subprodutos da filetagem da tilápia do Nilo, *Oreochromis niloticus* (L), em função do peso corporal. *Acta Scientiarum*, **23**(4), 897-901.
- Takashima, F. & Hibiya, T. (1995) Normal and pathological features. *An atlas of fish histology*, ed, 2, pp.195.
- Vicentini, C.A., Franceschini-Vicentini, I.B., Bombonato, M.T.S., Bertolucci, B., Lima, S.G. & Santos, A.S. (2005) Morphological study of the liver in teleost *Oreochromis niloticus*. *International Journal of Morphology*, **23**, 211-216.

Taylor, P.W.; Roberts, S.D. (1999) Clove oil: an alternative anesthetic for aquaculture. *North American Journal of Aquaculture*, **61**, 150-155.

UFV - Universidade Federal de Viçosa. (2000) SAEG - Sistema de análises estatísticas e genéticas. Versão 8.0. Viçosa, MG.

Viola, S. & Arieli, Y. (1983) Evaluation of different grains as ingredients in complete feeds for carpan tilapia in intensive culture. *The Israeli Journal Aquaculture - Bamidgeh*, **35**, 38-43.

Wright, P.M., McCormick, B., Sherman, W.S. & McMahan, G.C. (1999) The role of human resources practices in petro-chemical refinery performance. *The International Journal of Human Resource Management*, **10**, 551–571.

Zelikoff, J.T. (1998) Biomarkers of immunotoxicity in fish and other non-mammalian sentinel species: predictive value for mammals? *Toxicology*, **129**(1), 63-71.

Zweig, R.D., Morton, J.D. & Macol, M. (1999) Source water quality for aquaculture. Washington: World Bank, pp.76.

8. ANEXOS

Anexo 1. Estrutura física do experimento

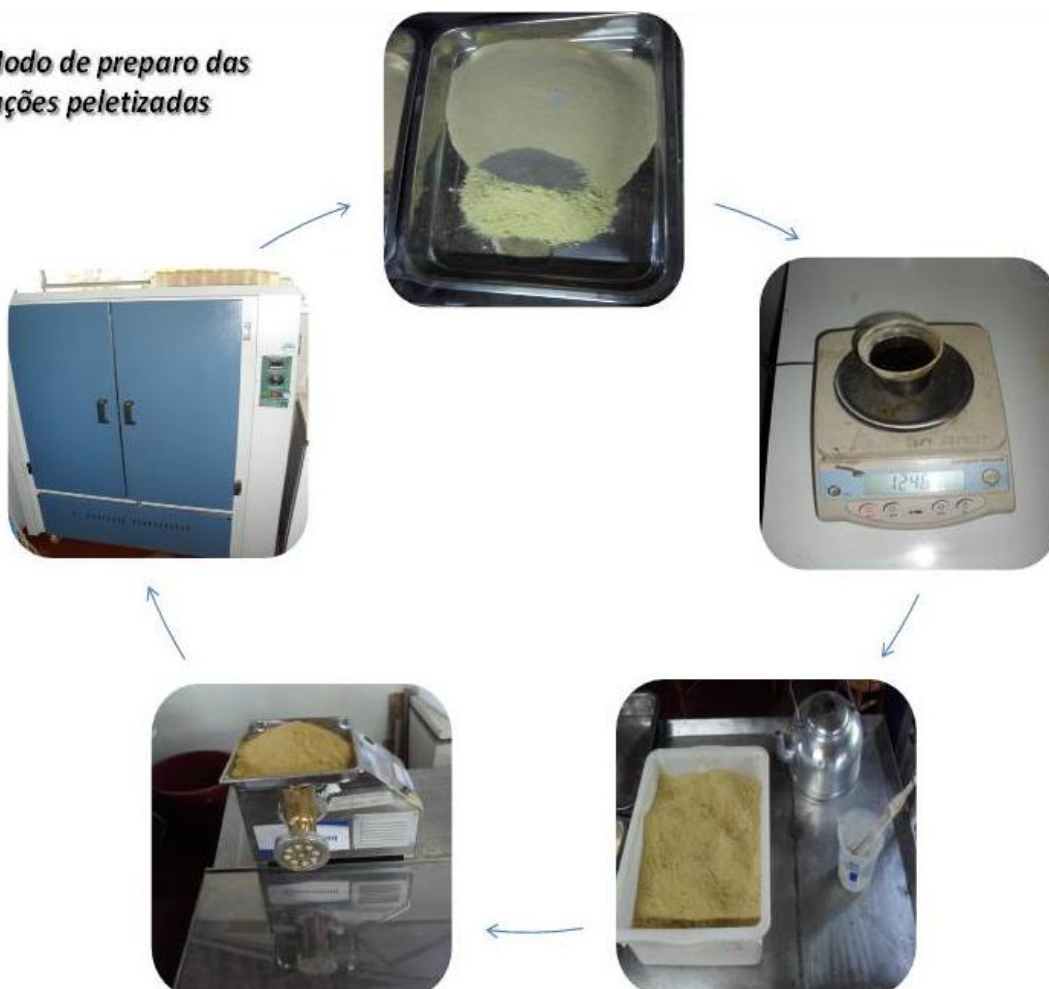


Anexo 2. Biofiltros da estrutura

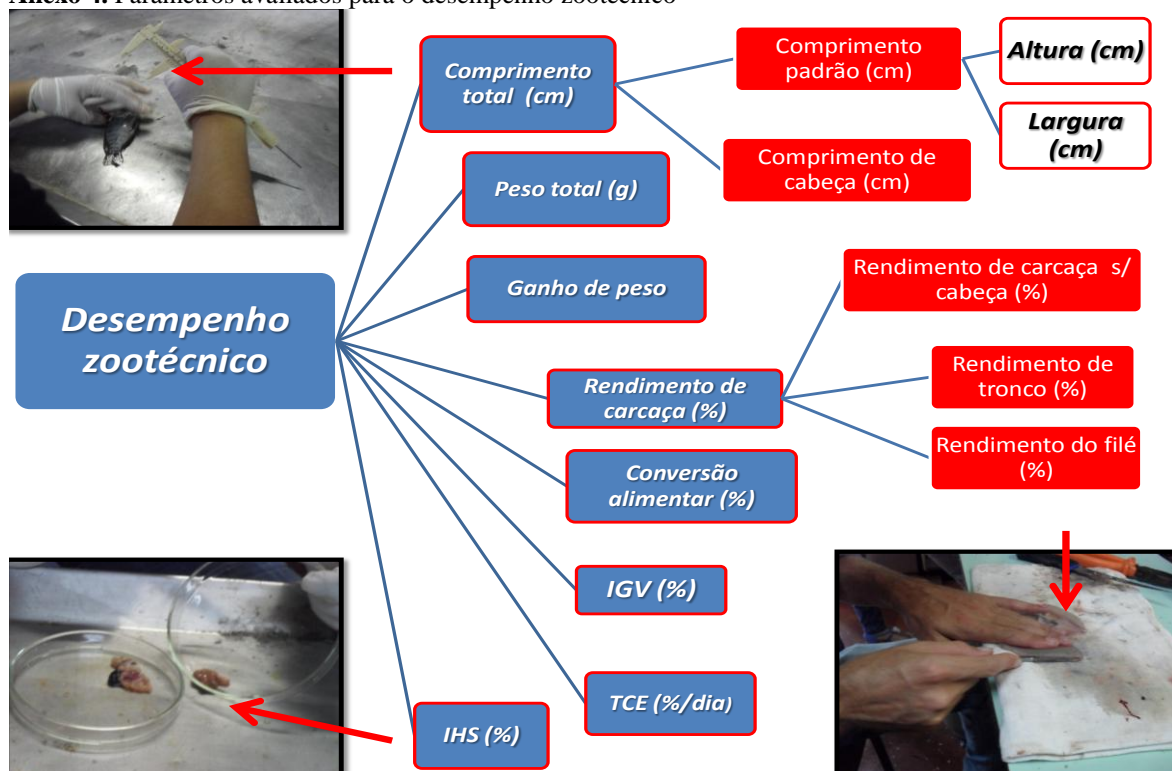


Anexo 3. Preparo das rações

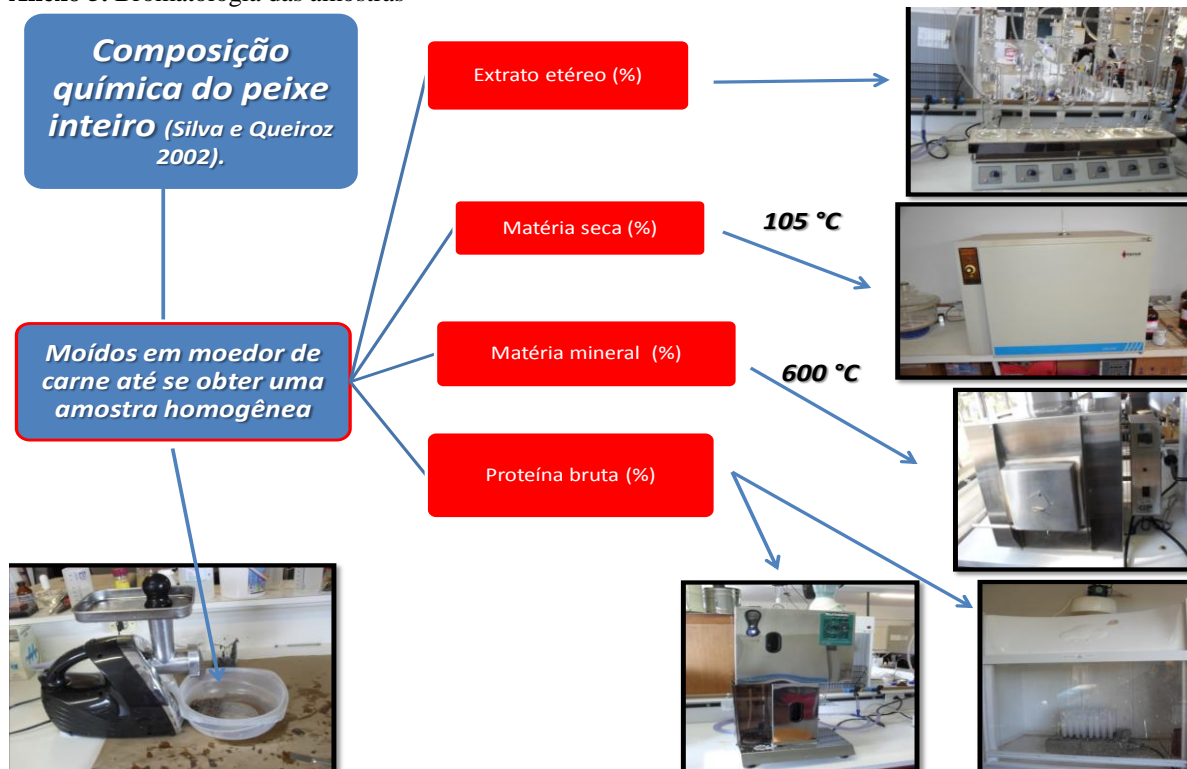
*Modo de preparo das
rações peletizadas*



Anexo 4. Parâmetros avaliados para o desempenho zootécnico



Anexo 5. Bromatologia das amostras



Anexo 6. Micrótomo automático (LEICA, RM)



Anexo 7. Hematoxilina/eosina



Anexo 8. Estrutura física do trabalho



Anexo 10. Biofiltros da estrutura



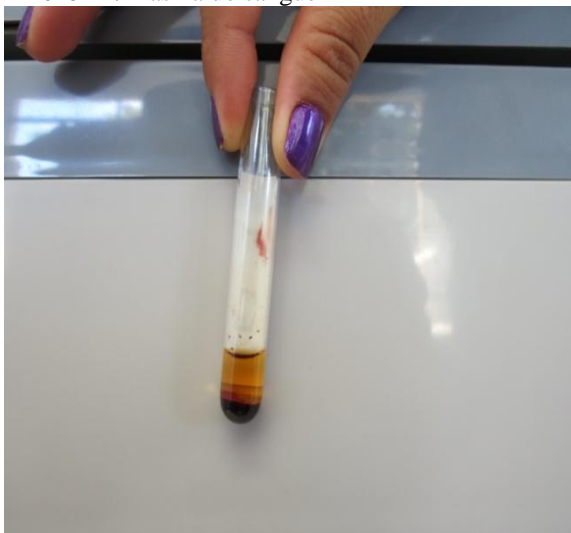
Anexo 9. Sifonagem das caixas



Anexo 11. Peletizadora experimental



Anexo 12. Plasma do sangue



Anexo 13. Centrifuga

